LIBRARY
CSAT

Ano 1943

Tomo 38

Fascículo 3

# MEMÓRIAS
## DO
# INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Rio de Janeiro - Brasil

IMPRENSA NACIONAL
RIO DE JANEIRO — 1943

# ÍNDICE

**Tomo 38 Junho, 1943 Fascículo 3**

TORRES, C. MAGARINOS e VILLAÇA, JOÃO RIBEIRO — Linfangioma cístico congênito. . . . . 253

NERY GUIMARÃES, F. — Toxoplasmose humana. Meningoencefalomielite toxoplásmica. . . . . 257

LINHARES, HERMÍNIO — Possibilidades de transmissão e vias de inoculação da lepra murina em ratos e outros animais . . . . . 321

PARAENSE, LOBATO — Aspectos parasitários observados no local inoculado com esporozoitos de *Plasmodium gallinaceum* . . . . . 353

FREITAS, J. F. TEIXEIRA de — Estudos sôbre nematódeos filarídeos *Dipetalonema caudispina* (Molin, 1858) . . . . . 361

TORRES, C. MAGARINOS — Alterações patológicas do apêndice vermiforme contendo Proglottis de *Taenia* sp. . . . . 373

TRAVASSOS, LAURO e FREITAS, J. F. TEIXEIRA de — Relatório da sétima excursão científica do Instituto Oswaldo Cruz, realizada à zona da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil, em maio de 1942 . . . . . 385

HATHAWAY, CHARLES R. — Associação entre *Mallophaga* e *Hippoboscidae* . . 413

XAVIER, ANTÔNIO AUGUSTO — O automatismo do segmento de intestino delgado dos mamíferos . . . . . 419

DIAS, EMMANUEL e FREITAS filho, LONCOLN — Introdução ao estudo biométrico dos hemoflagelados do gênero *Schizotrypanum* . . . . . 427

NERY GUIMARÃES, F. e JANSEN, GETH — Novo transmissor do *Trypanosoma (S.) cruzi*, Chagas 1909 . . . . . 437

HATHAWAY, CHARLES, R. — Considerações sôbre *Cephisius siccifolius* (Walker, 1871) (*Momoptera: Cercopidae*) . . . . . 443

SOUZA-ARAUJO, H. C. de — Infecção espontânea e experimental de Hematófagos (Ixodídeos, Triatomídeos, Culicídeos, Hirudíneos, Pediculídeos e Cimicídeos) em leprosos . . . . . 447

LENT, HERMAN — Triatomídeos da Guiana Holandesa. Redescrição de *Panstrongylus lignarius* (Walker, 1873) . . . . . 485

LENT, HERMAN — Novo transmissor da doença de Chagas na cidade do Rio de Janeiro, D. F. Estudo dos gêneros *Belminus* Stal, 1859, *Bolbodera*, Valdés, 1910 e descrição de *Parabelminus carioca* n. g., n. sp. (*Hemiptera: Triatomidae*) . . . . . 497

OLIVEIRA-CASTRO, G. M. de — Ecologia do *Anopheles gambiae*. Pesquisas preliminares sôbre a viabilidade dos ovos que ficam fora da água . . . . . 517

As **MEMÓRIAS,** orgão oficial do Instituto Oswaldo Cruz, editadas sob a direção do Dr. H. C. de Souza-Araujo, são reservadas, exclusivamente, à publicação de trabalhos nele realizados, e aparecerão em fascículos em Março, Junho, Setembro e Dezembro.

Toda a correspondência deverá ser dirigida à:

REDAÇÃO DAS MEMÓRIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
CAIXA POSTAL 926 — ENDEREÇO TELEGRÁFICO: "MANGUINHOS", RIO
RIO DE JANEIRO — BRASIL

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo 38 Junho, 1943 Fascículo 3

# Linfangioma cístico congênito (*)

pelos Drs.

C. Magarinos Torres e João Ribeiro Villaça

(Com 1 estampa)

O linfangioma ou blastoma formado por estruturas semelhando vasos linfáticos, apresenta três tipos anatômicos, referidos pela maioria dos autores, sob as designações de *lymphangioma simplex, lymphangioma cavernosum* e *lymphangioma cysticum.*

O linfangioma cístico puro é considerado como de rara ocorrência no homem; nele, maior número de vezes, está associado ao linfangioma cavernoso. Tambem denominado cistóide congênito, *hygroma cysticum congenitum,* representa um blastoma benigno, constituído por espaços ou cavidades revestidas por endotélio, cujas paredes são formadas por tecido conjuntivo, com fibras elásticas e musculatura lisa.

Origina-se de remanescentes do sistema linfático primitivo, com frequência na proximidade de centros linfáticos das regiões cervical e axilar. FARR (cit. por TOW) menciona 91 casos, na região cervical (*hygroma cysticum colli*), 35, na axilar, 11, disseminados em diversas regiões, tais a coxa, a perna, a região sacra, períneo, o lábio, a língua, a bochecha, a parede abdominal, o ombro e a órbita. Não é raro reconhecer-se o tumor desde o nascimento.

Os principais sintomas são os de compressão, de importância quando exercidos sobre a traquéia, o faringe, assoalho da boca, mediastino, nervos e

* Recebido para publicação a 2 de março e dado à publicidade em junho de 1943.

vasos de grosso calibre. A constituição peculiar do tumor explica que se amolde, com facilidade, às estruturas circunvizinhas mais densas, atingindo, por vezes, consideravel volume, antes de provocar fenômenos mórbidos.

O diagnóstico, de ordinário, não oferece dificuldade. A existência de tumor mole, flutuante, multilocular, verificada, desde o nascimento, ou na primeira infância, particularmente na axila ou na região cervical lateral, desperta a atenção. De regra, o crescimento é lento e progressivo, com períodos irregulares de quiescência.

Dos tratamentos adotados (cirurgia, radium, raios X, substituição do conteudo líquido por substâncias esclerosantes, tais a solução a 5 % de morruato de sódio), o cirúrgico deve oferecer a preferência, na opinião de TOW (1941) (1).

O caso que observamos é o de uma menina de 18 meses de idade, a qual apresentava, desde o nascimento, um tumor na axila, que vem aumentando, lentamente, de volume. Constitue, agora, uma grande massa, com a consistência de lipoma, muito movel sob a pele, ocupando toda a região axilar esquerda e a porção lateral correspondente do torax (Fig. 1). A sua consistência, nos contornos, não permite diferenciá-la, de modo nítido, dos tecidos circunvizinhos. A superfície é, antes, lobulada do que lisa; através da pele aparecem veias com ligeira dilatação.

A intervenção (Op. J. Villaça, aux. Soares e Gil, an. Andrés, inst. Maria B.) correu bem, tendo sido feita sob anestesia geral, cloretila, no começo, e eter. Incisão ovalar, dissociação em todo o contorno do tumor, trabalhosa e dificil, em sua parte superior, onde tinha contacto com nervos e vasos do plexo braquial. Hemorragia reduzida ao mínimo. Fechamento com drenagem. Boa convalescença, e cicatrização p.p.

O exame microscópico revela a presença de cavidades, geralmente pequenas, de forma variavel, revestidas por endotélio, circundadas por tecido conjuntivo adiposo (figs. 2 e 3). As paredes são formadas por fibroblastos, fibras colágenas, fibras elásticas e fibras musculares lisas (Figs. 3 e 4). O grau em que tais elementos participam da formação das paredes, e a espessura respectiva delas, são muito variaveis, em uma mesma cavidade, de um para outro ponto (Figs. 2, 3 e 4). As fibras elásticas são numerosas, nos pontos em que a parede é mais espessa (Fig. 4), faltando, inteiramente, onde a camada subendotelial conjuntivo-muscular é delgada (Fig. 2). Os cistos menores, frequentemente se comunicam entre si, conferindo ao tumor a estrutura de linfangioma cavernoso em determinados pontos. O contéudo dos cistos é representado por substância amorfa, pouco corada pela hematoxilina.

(1) TOW, A., 1941. Cystic hygroma in infancy. Report of three cases including one with congenital lipoma. Arch. Peditr., 58 : 73-82.

## RESUMO

Os autores apresentam um caso de linfangioma cístico congênito, localizado na região axilar esquerda e porção lateral correspondente do torax, em menina de 19 meses de idade, cujo tratamento cirúrgico teve pleno êxito.

O tumor existia desde o nascimento, a sua estrutura histológica correspondendo à de linfangioma cístico, associada à de linfangioma cavernoso.

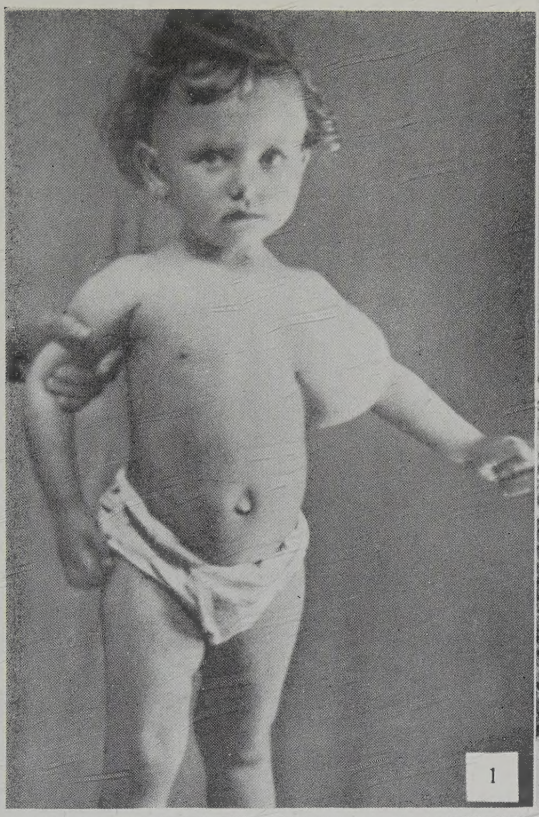
## ESTAMPA 1

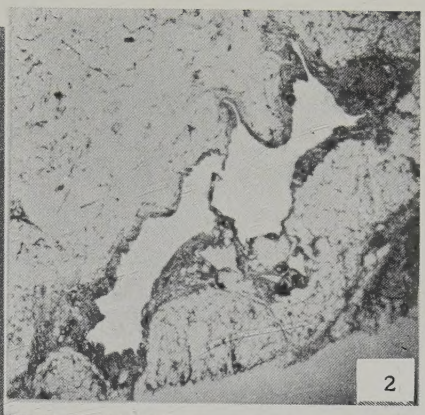
Fig. 1 — M. C., sexo feminino, 18 meses de idade. Linfangioma cístico congênito da região axilar esquerda e porção lateral correspondente do torax.

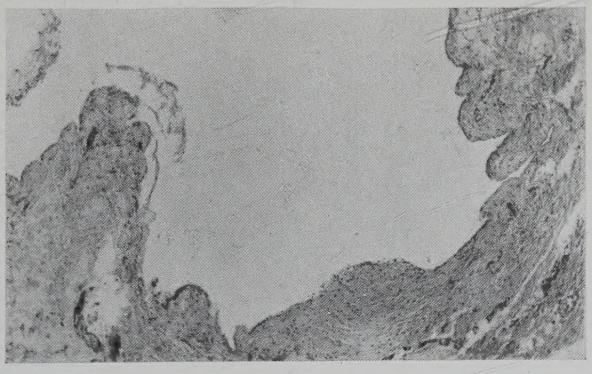
Fig. 2 — Linfangioma cístico congênito. Ausência de fibras elásticas, nas paredes de cavidades císticas de pequenas dimensões.
Metodo de VERHOEFF.

Fig. 3 — Linfangioma cístico congênito. A cavidade cística é revestida por endotélio. As suas paredes, de espessura irregular, são formadas por fibroblastos, fibras colágenas e fibras musculares lisas.
Hematoxilina-eosina.

Fig. 4 — Linfangioma cístico congênito. Parede de cavidade cística onde são numerosas as fibras elásticas.
Metodo de VERHOEFF.






**Torres & Villaça :** Linfangioma cístico congênito

# Toxoplasmose humana

## Meningoencefalomielite toxoplasmica: Ocorrência em adulto e em recemnascido (*)

por

F. Nery Guimarães

(Com 2 estampas, 28 figuras, 2 gráficos, 2 quadros e 1 mapa)

Em uma "nota preliminar" lida na Sociedade de biologia (sessão de 9-8-41) pelo prof. Carlos Chagas, comunicamos o encontro de um caso de meningoencefalomielite granulomatosa associada à miocardite e hepatite, por cuja etiologia foi responsabilizado um microorganismo encontrado nas lesões, o qual foi identificado a *Toxoplasma*. O presente trabalho constitue o estudo detalhado desse caso, juntamente com o relato de um outro provavel, encontrado posteriormente em criança.

## REVISÃO HISTÓRICA

Cinco anos depois de terem sido descritos os microorganismos do gênero *Toxoplasma* (1908), independentemente, por Splendore (49, 50) no coelho do Brasil, e por Nicolle & Manceaux (34, 35, 36) no gondi (*Ctenodactylus gundi*), roedor norte-africano, Castellani (10) pretendeu ter encontrado este parasito no homem. Tratava-se de um rapaz de 14 anos, do Ceilão, que sofria de febre prolongada, anemia e esplenomegalia, em preparações de sangue e polpa esplênica do qual Castellani verificou organismos microscópicos que relacionau aos toxoplasmas, chamando-os *Toxoplasma pyrogenes*. Em 1916, Fedorovitch (21) concluiu ter achado este parasito de Castellani no sangue de uma criança de 10 anos, do Mar Negro, a qual apresentava quadro clínico semelhante E, em 1920, Chalmers & Kamar (11) tambem pretenderam ter encontrado *Toxoplasma pyrogenes* no baço de um soldado falecido no Sudão,

(*) Trabalho da Divisão de Estudos de Endemias do Instituto Oswaldo Cruz. Chefe: Professor Aristides Marques da Cunha.

* Recebido para publicação a 3 de março e dado à publicidade em junho de 1943.

com febre crônica, cefaléia, esplenomegalia, anemia e diarréia. Porém, Wenyon (57, 58), estudando estas verificações, pensa que os achados de Castellani e Fedorovitch são contaminações dos preparados por organismos vegetais (levedos, cocos, grandes bacilos) enquanto que os de Chalmers & Kamar são leishmanias degeneradas.

Bland (5), em 1931, inoculando o sangue de dois indivíduos com febre glandular em coelhos, viu um destes animais adoecer e morrer. Em seguida, com material do mesmo transmitiu essa doença de coelho a coelho em várias passagens, verificando, finalmente, que a mesma era causada por *Toxoplasma*. Pensou, então, que este parasito era originário do sangue humano inoculado e que, consequentemente, a febre glandular era causada por ele. Mas, parece claro, subsiste tambem certa possibilidade dos parasitos isolados serem do coelho e não do material humano inoculado.

Alem desses casos duvidosos acima transcritos, a partir de 1923 teem sido relatados casos de u'a moléstia predominante do sistema nervoso central e de maior incidência infantil. Em todos eles, ao lado das lesões, foram encontrados parasitos em condições tais, que permitiram concluir serem os mesmos os responsaveis pela etiologia dos processos patológicos descritos. Tais parasitos, a princípio não classificados, ou classificados diferentemente, foram por fim identificados a *Toxoplasma*. Esses casos são os seguintes:

1) — *Caso de Janku* — (24). O paciente era uma criança de aproximadamente um ano de idade, falecida em Praga, em 1923. Nascida de sete meses, ficara cega desde os três meses de vida. Desde cedo apresentou hidrocefalia progressiva e, finalmente, convulsões e vômitos. Um exame oftalmoscópico revelou uma corio-retinite bilateral. À autopsia, foi constatada obliteração do aqueduto de Sylvius. Não foi examinado microscopicamente o encéfalo, mas em cortes do olho direito foram vistos parasitos dispostos em esporocistos, os quais Janku relacionou a um *Sporozoa*, e concluiu serem o agente etiológico das lesões encontradas.

2) — *Caso de Torres* — (51, 52, 53, 54). Em 1927, Torres relatou o encontro de uma meningoencefalomielite, associada a miocardite e miosite, congênitas, na autopsia de uma recemnascida de dois dias de vida, falecida no Rio de Janeiro. Tratava-se de uma criança branca e nascida a termo a qual, durante o curto período de vida, apresentara contraturas musculares generalizadas e convulsões. Ao lado das lesões encontradas nos orgãos do sistema nervoso central, coração, músculos esqueléticos e tecido celular subcutâneo, era constante a presença de um parasito intracelular. Torres relaciona o parasito aos gêneros *Toxoplasma* e *Encephalitozoon* e, embora afirme que as lesões inflamatórias encontradas se assemelhem muito às obser-

vadas na toxoplasmose experimental, termina classificando-o provisoriamente como *Encephalitozoon*, chamando-o *Encephalitozoon chagasi*, em homenagem a Carlos Chagas.

Levaditi, e Levaditi & colaboradores (25, 27, 29), estudando as comunicações de Jankú e Torres, ressaltam a semelhança das lesões descritas por estes autores com aquelas por eles encontradas no encéfalo de coelhos infetados com *Toxoplasma cuniculi*.

3) — *Caso de Wolf & Cowen* — (59). Foi publicado em 1937. Tratava-se de uma criança de New York, de vinte e nove dias de idade, a qual nascera a termo, após um parto laborioso. Esteve hospitalizada apenas cinco dias, observando-se então febre alta, distúrbios respiratórios, ataques convulsivos, pulso rápido e aumento do crânio. Uma oftalmoscopia, mostrou retinite bilateral. Na autopsia, foi encontrada obstrução do aqueduto de Sylvius e múltiplas lesões no cérebro. Microscopicamente, foi constatada uma meningoencefalomielite caracterizada pela presença de granulomas, ao lado de áreas inflamatórias, às vezes necróticas. Ao lado das lesões, foram encontrados parasitos intra e extracelulares. Estes parasitos foram identificados pelos autores àqueles descritos por Jankú e Torres, cujas comunicações concluiram representar casos do mesmo processo mórbido de que se ocupavam. Concordando com Torres, classificaram o parasito como *Encephalitozoon*, denominando-o — *Encephalitozoon hominis*.

4) — *Caso de Richter* — (42). No ano seguinte, Wolf & Cowen (60) foram atraidos pela semelhança que apresentava com o do seu caso anterior, o quadro anátomopatológico descrito por Richter em 1936, em uma "meningoencephalomyelite neo-natorum". Reexaminando as preparações de Richter, concluiram que estavam em presença de um novo caso da doença, pois encontraram parasitos morfologicamente idênticos àqueles que tinham descrito no caso anterior. Tratava-se de uma criança de sete semanas de idade, de Chicago, a qual apresentara febre, convulsões e opistótono. Estudando novamente os parasitos neste caso. Wolf & Cowen acharam haver mais probabilidade dos mesmos serem *Toxoplasma* do que *Encephalitozoon*.

5) — *Caso de Wolf, Cowen & Paige* — (61, 62). Em 1939, Wolf, Cowen & Paige publicaram o relato de um novo caso da doença. O paciente era um recemnascido internado no Hospital de Crianças de New York, sofrendo de ataques convulsivos, distúrbios respiratórios, cianose, labilidade de temperatura e dispnéia. Oftalmoscopicamente, foi encontrada coriorretinite bilateral. O óbito ocorreu aos trinta e um dias de vida com dispnéia e cianose intensas. Ao exame microscópico, as lesões encontradas no sistema nervoso, assim como os parasitos a elas associados, eram idênticos aos descritos nos

casos anteriores. Os autores conseguiram transmitir a doença a animais de laboratório, nos quais encontraram lesões e parasitos semelhantes aos verificados na criança. Dado o comportamento dos parasitos nos animais de experiência, concluiram serem os mesmos *Toxoplasma*. Provas de imunidade cruzada feitas com os parasitos isolados da criança e u'a amostra de *Toxoplasma* de cobaio, amostra Sabin & Olitsky (45), demonstraram que animais imunes para os primeiros tambem o eram para a segunda e "vice-versa".

Sabin (43), trabalhando com estas duas mesmas amostras, confirmou estas experiências de imunidade cruzada e, finalmente, chegou à conclusão de que *Toxoplasma* de origem humana e animal são idênticos biológica e imunologicamente, confirmando, deste modo, a opinião de numerosos autores, que sempre consideraram os toxoplasmas como uma espécie única, infetando animais de diferentes espécies zoológicas: Mesnil (32), Arantes (3), Carini (28), Chatton & Blanc (12), Aragão (2), Coutelen (16), entre outros. Deste modo, as chamadas espécies: *canis,* (31), *caviae* (9), *musculi* (46), *ratti* (47), *columbae* (7), *cuniculi* (49, 50), *brumpti* (11), *laidlawi* (16), *wenyoni* (15), etc. — cáem todas em sinonimia prevalecendo a espécie mais antiga — *Toxoplasma gundii* Nicolle & Manceaux, 1909.

Wolf, Cowen & Paige, propuseram à nova doença o nome de *encefalomielite toxoplásmica* e ao agente etiológico da mesma — *Toxoplasma hominis*. Mas, em virtude das razões expostas, está claro que tal designação serviria apenas para indicar de onde procede a amostra. Porém, desde que Torres, que foi quem primeiro classificou os parasitos em questão, chamou-os *Encefalitozoon chagasi,* uma vez os mesmos, sendo relacionados a outro gênero, pelas leis da sistemática, deve ser conservado o nome específico, passando-se a chamá-los — *Toxoplasma chagasi* (Torres, 1927).

6) — *Caso de Pinkerton & Weinman* — (40). Em 1940, Pinkerton & Weinman referem o primeiro caso da doença em adulto, encontrado em exames "post-mortem" em Lima (Perú). O paciente era um peruano de vinte e dois anos que fora hospitalizado em 1937, com febre, anemia e fraqueza, datando de uma semana. No hospital, revelou-se uma infecção por *Bartonella baciliformis*. Nada obstante as bartonelas terem quasi desaparecido do sangue, o doente morreu depois de cinco dias de hospitalizado. Microscopicamente, foram encontrados em diferentes orgãos lesados parasitos uninucleares, os quais os autores identificaram a *Toxoplasma*.

7) — *Caso de Hertig* — Nessa mesma publicação (40) Pinkerton & Weinman reestudam uma observação descrita por Hertig (23) em 1934, a qual foi então classificada como um caso de *Sarcocystis,* e chegam à conclusão de que os parasitos em causa são na realidade *Toxoplasma*. O caso re-

fere-se a uma criança nascida em Massachussetts após uma prenhês de sete meses e falecida aos vinte e cinco dias de vida. A criança externamente era normal. Microscopicamente, foram encontrados múltiplos focos inflamatórios e necróticos, de origem bacteriana, no cérebro e em outros orgãos. Mas, não somente no cérebro, como tambem na medula espinal, coração, pulmões e suprarrenais, foi encontrado *Toxoplasma*.

8 e 9) — *Casos de Sabin* — Em 1941, Sabin (44), comunicou o encontro de dois casos de uma encefalite clinicamente atípica, encontrados em outubro de 1939, em Cincinnati. Os pacientes eram dois meninos de seis e oito anos respectivamente, os quais apresentaram febre, convulsões generalizadas, desorientação, cefaléia intensa e pleocitose, sem sinais de irritação meningéia. O primeiro faleceu ao cabo de trinta dias de moléstia, e o segundo restabeleceu-se completamente após nove dias de doença.

No cérebro do primeiro foram encontrados pequenos focos granulomatosos e necróticos, junto aos quais foram vistas estruturas semelhantes a *Toxoplasma*. Oito camondongos foram inoculados com emulsão de tecido cerebral retirado na autopsia, e cinco deles apresentaram toxoplasmose. Por outro lado, foram demonstrados anti-corpos neutralizantes para *Toxoplasma* no sangue do paciente.

Com liquor do segundo paciente, foram inoculados seis camondongos e dois cobaios. Como não havia suspeita de toxoplasmose, os camondongos foram desprezados após três semanas de observação. Os cobaios morreram entre a quinta e sexta semana de inoculação e deles foi isolado *Toxoplasma* por passagem para cobaios.

10 e 11) — *Casos de Pinkerton & Henderson* — (39). Estes casos descritos tambem em 1941, foram observados pelos autores no ano anterior em St. Louis. Os pacientes eram um homem e u'a mulher de respectivamente 50 e 43 anos de idade. Não havia quasi nenhuma semelhança clínica com os casos anteriores, sendo essencialmente uma doença aguda febril e exantemática, com pneumonia atípica. Tanto clínica como patologicamente, os autores acharam notavel semelhança do processo mórbido em questão com a febre maculosa das Montanhas Rochosas. Ambos foram fatais após curta evolução. Organismos intracelulares com estrutura de *Toxoplasma*, foram encontrados nos pulmões, baço e coração do primeiro caso e nos pulmões, coração, baço, fígado e cérebro do segundo. A principal lesão encontrada em ambos os casos foi uma pneumonia intersticial, a qual foi posteriormente estudada aos raios X por Sante (48). Verificou-se, assim, na mulher, que apresentava manifestações iniciais da molestia", um quadro muito semelhante à congestão pulmonar aguda com edema"; e no homem, que apresentava o último estágio

da doença "um quadro indistinguivel de broncopneumonia atípica de qualquer outra causa". Em cortes de encéfalo deste último caso, Pinkerton & Henderson encontraram u'a meningoencefalite focal. Não foi examinado o sistema nervoso do outro caso.

Sangue retirado do homem foi inoculado em dois cobaios os quais morreram e não foram examinados. Mas, Pinkerton & Henderson acham provavel que tenham morrido de toxoplasmose.

Com sangue da mulher foram inoculados tambem dois cabaios, os quais morreram de toxoplasmose. Os parasitos isolados dos cobaios foram transmitidos em série nos mesmos animais.

12, 13 e 14) — *Casos de Paige, Cowen & Wolf*. Em 1941-42 (37, 38), Paige, Cowen & Wolf publicaram a observação de mais três casos da doença em recemnascidos, tendo oportunidade de confirmar o conceito da congenicidade da meningoencefalomielite toxoplásmica infantil. Esses casos, todos de New York, são os seguintes: I) Em uma recemnascida branca, prematura, foi constatada hidrocefalia progressiva duas horas após o nascimento e, no sexto dia de vida, foi verificada pelos raios-X, calcificação cerebral. Em seguida, observou-se microftalmia e massas membranosas no vítreo de cada olho. O liquor era xantocrômico e com alto conteudo proteico. Últimos sintomas foram tremores e convulsões, falecendo a paciente com nove semanas de idade. A autopsia revelou uma encefalomielite necrosante difusa, com extensa calcificação, ao lado de granulomas miliares. A acentuada hidrocefalia interna era devida à oclusão do aqueduto de Sylvius. Foi verificada tambem corio-retinite bilateral. *Toxoplasma* era presente nas lesões do cérebro, medula espinal e olhos. Camondongos inoculados com emulsão de tecido cerebral, morreram de toxoplasmose; II) Outra criança, verificada com hidrocefalia "in utero" foi retirada após craniotomia. Resultado de gravidez a termo, esta criança era normalmente desenvolvida, exceto quanto ao alargamento da cabeça. Ao exame anátomo-patológico foi encontrada uma avançada encefalomielite toxoplásmica, com extensa calcificação das lesões, ao lado de corio-retinite. Parasitos foram encontrados no sistema nervoso central, coração, músculos esqueléticos e suprarrenais; III) Uma outra recem-nascida, branca, prematura, apresentou uma infecção pulmonar no segundo dia de vida. No dia seguinte, foi observada falência circulatória e febre, tendo a criança morrido com três dias e meio de vida. O exame microscópico constatou a presença de toxoplasmas nos pulmões, coração, cérebro, suprarrenais, tireoide, músculos esqueléticos e tecido adiposo. As lesões principais foram: pneumonia intersticial, miocardite aguda difusa e encefalomielite granulomatosa.

Foram verificadas anticorpos neutralizantes para *Toxoplasma* no sangue das mãis das duas primeira crianças.

15) — *Caso de De Lange.* Em 1929, De Lange (19) publicou a observação feita em Amsterdam, de um caso de hidrocefalia interna devida à oclusão parcial do aqueduto de Sylvius, secundária a meningoencefalite. Os quadros macro e microscópico das lesões do sistema nervoso central, levaram Paige, Cowen & Wolf (38) a suspeitar que se tratava de um novo caso da doença. Tendo tido oportunidade de reexaminar as preparações desse caso, encontraram toxoplasmas nas lesões. O resumo da observação, é o seguinte: uma recem-nascida, branca, de nove dias de idade, foi hospitalizada, apresentando consideraveis flutuações de temperatura, variando de febre alta até niveis subnormais. Tremores dos braços foram observados e, aos 16 dias de idade, constatou-se hidrocefalia. Finalmente, vomitos eram frequentes, e a criança morreu aos quatro meses, com respiração com ritmo de Cheyne-Stokes. À autopsia, verificou-se: estenose do aqueduto de Sylvius, intensas lesões inflamatórias necrosantes do cérebro, com extensa calcificação, ao lado de granulomas miliares. Numerosos toxoplasmas eram observados nas lesões.

Em 1942, Dyke, Wolf, Cowen, Paige & Caffey (20) fazendo cuidadosos estudos roentgenológicos, sobre 10 casos de toxoplasmose infantil (incluindo seis novos casos diagnosticados clinicamente), verificaram que "calcificação intracerebral difusa é a mais notavel evidência radiológica da encefalite toxoplásmica infantil ou congênita" (88. 9 % dos casos examinados a apresentaram).

## CASO — I

A) — *História do observado* — J. M., 18 anos, preto, lavrador e residente em Caxias (E. do Rio). Deu entrada no Hospital Evandro Chagas em 15-4-41.

Os genitores que o acompanhavam disseram que ele adoecera a 10-3-41, com febre, sudorese abundante e dor de cabeça. Tomara cápsulas de quinino e uma injeção, tendo melhorado. Voltou depois a febre com muita intensidade, acompanhada de forte dor de cabeça e dor nas pernas. A marcha tornou-se dificil. Ao tentar andar, o paciente arrastava as pernas "jogando-as para os lados" (sic). Dois médicos que foram chamados para vê-lo, acharam que ele tinha malária. Dez dias antes de vir para o hospital, o doente peorara muito. Quase não evacuava e sentia "falta de ar". A língua "enrolava", não pronunciando direito as palavras (sic). O doente entrou carregado; estava dispneico e não falava. A temperatura era 38° 6 C. e o pulso — 140. Dadas as condições do paciente não foi possivel fazer um exame geral. Tomando por base a procedência (zona malarígena) e as informações paternas, suspeitou-se de terçã maligna. Como o estado geral do doente era péssimo,

foi prescrita um gr. de qq. em 250 cc. de soro glicosado na veia, com prévia aplicação de adrenalina, ao mesmo tempo que eram tiradas lâminas em gota espessa e estiraço para pesquisa de hematozoários. À tarde do mesmo dia, às 18 horas, a temperatura tinha subido para 39° 4 C., não obstante a terapêutica empregada. Estava com extrema adinamia e delirava. A alimentação era difícil. O exame de sangue fora negativo para plasmódios, apesar de termos realizado uma pesquisa exaustiva. Uma contagem diferencial que então fizemos deu o seguinte resultado: total neutrófilos — 47 % (jovens — 1,0 %, em bastão — 2.7 %, segmentados — 43.7 %); linfócitos — 27.7 %; monócitos — 24.7 % e eosinófilos — 0.7 %.

Durante toda a noite o doente passou mal, sem dormir, e delirando.

Dia 16-4. — Observou-se durante o dia pequenas variações de temperatura, respiração e pulso, sendo que este aumentava sempre, atingindo às 14 horas 168, quando a temperatura era de 39° 8 C. e a respiração 44. Fígado e baço não eram palpaveis e estas manobras provocaram reação de defesa abdominal e expressão dolorosa. O doente tentava falar, mas a língua, em absoluto descontrole, não conseguia articular nenhuma palavra. A perna direita mantinha-se sempre parcialmetne flétida e, às tentativas para distendê-la, seguiam-se gemidos profundos. Era observada franca rigidez da nuca. Novas lâminas de sangue foram tiradas, e o exame continuou negativo para plasmódios. Apesar disso, e como medida última, foi prescrita mais uma grama de qq. em 250 cc. de soro glicosado. Durante o dia todo a alimentação do paciente só foi possivel derramando-se líquidos na garganta, os quais eram dificilmente deglutidos. À noite, passou sem dormir e gemendo muito.

Dia 17-4. — Às 2 horas apresentava 168 pulsações por minuto, a temperatura era 39° 4 C. e a respiração 44. Registou-se ligeira evacuação de urina e fezes, sendo que destas pela primeira vez desde a entrada no hospital. Às 6 horas o ritmo respiratório era de 40, a temperatura subira três décimos e o pulso caira para 100. A reação aos estímulos exteriores era nula. O coma sobreveio às 10 horas e, 20 minutos depois o doente falecia. (Fig. 1).

B) — *História da família do observado* — Os pais estão casados há mais de vinte anos, tendo sempre residido no interior do Estado do Rio. Viviam geralmente em casas de barro "à sopapo", cobertas de telhas, o genitor dedicando-se aos trabalhos agrícolas. A alimentação da família era a comum: carne, arroz, feijão, milho, etc. Às vezes, caças tambem faziam parte dos alimentos, sendo estas representadas geralmente por tatús, e, menos frequentemente por coelhos e gambás, os quais eram ingeridos depois de cozidos ou assados. Como todas as famílias do interior, quase sempre possuiram animais domésticos (cães, gatos, pássaros). Suas condições de higiene foram

sempre precárias. Alem de dois abortos, a mulher já teve dez filhos, metade dos quais faleceu. A história mórbida dos filhos, é a seguinte: 1) — Maria Lélia, nascida estrábica, morreu com dezesseis meses, após doença de evolução rápida (vinte dias), caracterizada por febre e diarréia; 2) — Manoel, falecido com seis anos em consequência de uma doença evoluindo rapidamente (dez dias) e representada por febre, e forte dor abdominal com parada

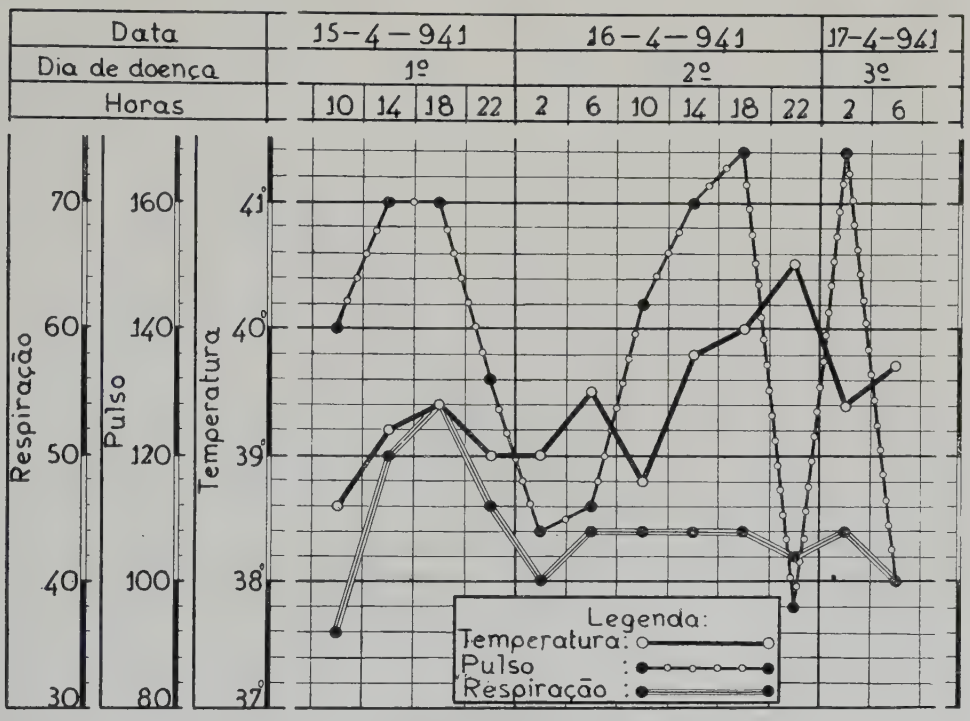



Fig. 1 — Curvas de respiração, pulso e temperatura apresentadas pelo obs. J. M. (Caso-I) no hospital.

de evacuação sobrevindo dois dias antes da morte; 3) — Maria, falecida com dez anos, de doença aguda e de evolução rápida (treze dias aproximadamente) a qual foi dada como paratifo por um farmacêutico; alem de febre alta, a criança sentia cefaléia, dispnéia e dor nas pernas, tendo deixado de caminhar com poucos dias de doente e instada para isto, dizia não ter firmeza nas pernas; 4) — Erondina, falecida com onze anos, mais ou menos um mês antes da anterior, com doença semelhante e aproximadamente da mesma duração.

Examinamos todos os membros da família, nada encontrando de anormal no pai e em três filhos. A mulher e os outros dois filhos estavam com malária.

A mãe tem atualmente 45 anos, e várias vezes sofreu de malária. Há cerca de seis anos teve uma "polinevrite", uma "dormência" nos pés e nas pernas (sic), a qual reaparece periodicamente. A marcha é então difícil, as pernas não tendo firmeza. Com injeções de estricnina, melhora.

Quando fomos visitar a família, havia cinco dias que ela estava com febre, cefaléia e "tonteiras". No hospital (21-4-41), constatou-se a infecção pelo *P. falciparum*, assim como num filho internado ao mesmo tempo. Fizemos uma contagem diferencial, em ambos, encontrando linfocitose (36.5% e 5 9.5% respectivamente) e eosinofilia (14.5% e 12.1% respectivamente). Um exame neurológico feito em ambos, nada revelou de anormal. Do mesmo modo, um exame oftalmoscópico. Foi feita uma punção lombar nos pacientes, obtendo-se em ambos, sob pressão normal, líquido límpido e incolor, com albumina e células normais, e com reações de Pandy, Takata-Ara, Wassermann e benjoim coloidal negativas.

Com o fim de despistar uma provavel infecção latente por *Toxoplasma*, principalmente na mulher, foram feitas as seguintes pesquisas: *a*) exames de *sangue* em estiraço e gota grossa feitos, a princípio de duas em duas horas e depois de quatro em quatro horas, durante dez dias, incluindo períodos febris e apiréticos, não demonstraram nenhum outro parasito, alem de plasmódios. Do mesmo modo, outros exames de sangue feitos irregularmente durante o resto da permanência de ambos no hospital; *b*) exame do *liquor* corado ao Giemsa. Na mãe foram feitos mais os seguintes exames: *c*) *secreção vaginal; d*) *sangue menstrual* centrifugado; *e*) escarificação da *pele; f*) escarificação da *parede de um abcesso; g*) *hepatopunção; h*) *escarro*. Todos estes preparados, corados pelo Giemsa, foram negativos para organismos com estrutura de *Toxoplasma*. Do mesmo modo, esfregaços após biópsia de pele e gânglio.

Posteriormente, a criança (Clauber) adoeceu e foi hospitalizada novamente encontrando-se malária (*P. falciparum*).

Uma tia materna (Celina) e um primo irmão (Santos), do observado J. M. adoeceram posteriormente e foram internados no hospital. Ambos apresentavam febre e sintomas pulmonares. Todas as tentativas para despistar num ou noutro diretamente uma infecção toxoplásmica, foram negativas. (*).

*Inoculações* — Nenhum dos animais inoculados quer com liquor, quer com sangue do observado Clauber (irmão), apresentou toxoplasmose, nem nos exames diretos, nem nas sub-inoculações. Do mesmo modo, nenhum dos

(*) Toda a família continúa em observação até ao presente.

animais inoculados com liquor ou sangue da observada Maria (mãe), foi encontrado com toxoplasmose. Porem, entre as sub-inoculações, um coelho (59 T) que tinha sido inoculado com emulsão de cérebro de um dos coelhos injetados com liquor da paciente, morreu em 4-8-41, tendo sido encontrados em esfregaços de cérebro do mesmo, organismos com estrutura de *Toxoplasma*. Emulsão de cérebro deste coelho foi inoculada em cinco camondongos e dois cobaios. Em apenas dois camondongos (66 T e 67 T), a inoculação foi positiva. Passagem do 67 T para camondongos foi negativa. Como parece evidente, tratava-se de uma infecção toxoplásmica espontânea

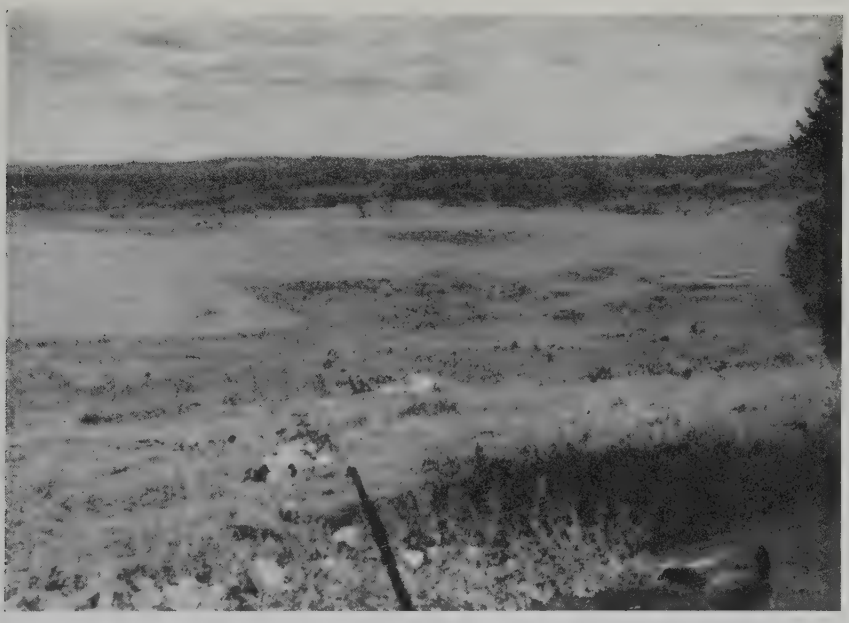


Fig. 2 — Vista panoramica da zona onde se encontra a fazenda onde adoeceu o observado J. M. (Caso I) a mata seguida de colinas.

provavelmente do coelho 59 T. Tambem foram negativas as inoculações em animais feitas com o sangue dos outros dois parentes do observado J. M. que estiveram hospitalizados (Celina e Santos).

*Soro proteção* — Material virulento, emulsionado no soro da observada Maria (mãe), e injetado no dorso de coelhos, desenvolveu lesões semelhantes às encontradas nos pontos inoculados com êsse mesmo material emulsionado em soro fisiológico, (test de Sabin).

Camondongos inoculados com material virulento emulsionado no soro da paciente, morreram de toxoplasmose em tempo normal.

C — *Local onde adoeceu o observado* — Como já ficou dito, o chefe da família é agricultor e o observado J. M. desde os quinze anos ajuda seu pai nos trabalhos agrícolas. Quando o rapaz adoeceu, a família se encontrava em P. das Caixas, Itaboraí, (Estado do Rio) onde o pai trabalhava em plantações de uma fazenda.

Esta fazenda, situada em um terreno bastante acidentado, com sucessão de pequenas colinas, (fig. 2), compreende uma área onde a mata foi desbastada, e dista 2 horas de automovel de Niterói. A fazenda é de plantação de fibras para tecidos.

Fig. 2A — Casa onde adoeceu o observado J. M. (Caso I).

Alem da "casa grande", que é um prédio de alvenaria e protegido com tela milimetrada nas portas e janelas, a fazenda compreende cerca de dez casas para trabalhadores, edificações grosseiras, de barro "à sopapo", servindo quase todas de habitação coletiva. Numa destas (fig. 2-A) residiu e aí adoeceu o observado J. M.; é uma casa de parede de barro, piso de terra batida e coberta de telhas. Há menos de 1 k. da mesma, encontra-se vegetação alta com vários animais silvestres: ratos, preás, tatús, gambás e coelhos, os quais são, às vezes, caçados para alimentação dos habitantes do local.

Presentemente, a casa encontra-se ocupada por nove trabalhadores, todos sofrendo de febres e quatro deles portadores de úlceras. Neste domicílio, foram capturados: dois anofelinos: *A. (N.) albitarsis,* dois piolhos: *[Pediculus humanus* (Linneu, 1758)] quarto percevejos : *[Cimex hemipterus* (Fabricius, 1803)] e duas pulgas : *[Ctenocephalides felis* (Bouché 1853)] (**).

Apesar de pesquisa intensiva, não foram encontrados "barbeiros" os quais eram desconhecidos pelos habitantes, não só por este, mas tambem por outros nomes vulgares. Quer neste domicílio e em outros, quer em cães domésticos, tambem não foram capturados flebotomus. Pertencentes a vizinhos, foram trazidos três cães, os quais, sacrificados, verificou-se estarem livres de toxoplasmose. Um deles albergava um exemplar macho de *Dioctophime renale,* no rim direito. Outro, era uma cadela que com poucos dias no laboratório, pariu cinco filhotes, um dos quais nati-morto. Este, como os demais, foram tambem negativos para *Toxoplasma,* não só por exames diretos mas tambem por inoculações.

Um dos trabalhadores, residente na casa onde adoeceu o observado J. M. estava com febre e em grande adinamia. Conduzimo-lo para o hospital, onde constatamos infecção pelo *P. falciparum,* com intensa fagocitose de hemozoina. (Quadro periférico de bloqueio).

Um homem de aproximadamente cinquenta e cinco anos, o qual viera para o loçal com o pai do observado faleceu neste domicílio, em consequência de um "ataque" (morte súbita).

Todos os trabalhadores, homens e mulheres, queixam-se de grande quantidade de carrapatos, os quais muito os molestam nas plantações, e neles veem agarrados quando à tarde voltam para os domicílios. Tivemos ocasião de capturar em alguns deles várias larvas de *Amblioma sp.* Em cães que os acompanhavam, capturamos adultos e larvas de *Rhipicephalus sanguineus.*

Foi feito um exame sumário de numerosos trabalhadores da fazenda, dos quais, aproximadamente, 20 % são portadores de úlceras nos membros inferiores. Quatro destas, as quais eram suspeitas de leishmanióticas, foram examinadas microscopicamente após biópsia, com resultados negativos para leishmanias. Em uma delas foi vista associação fuso-espirilar. Os trabalhadores atribuem tais úlceras a ferimentos em capins secos.

Foram feitas 17 lâminas de sangue em estiraço e gota espessa, em quatro das quais foram encontrados plasmódios ( três *P. falciparum* e um *P. vivax*).

(**) Com exceção dos anofelinos, estes insetos foram classificados no Laboratório do Prof. Lauro Travassos, a quem agradecemos.

D — *Autópsia* — Trinta minutos depois da morte iniciamos a autópsia pelo crânio: cadaver de um homem jovem, de cor preta e em más condições de nutrição, medindo 1,76 m de comprimento. Conjuntivas amarelas, pupilas igualmente dilatadas, dentes bem conservados.

*Meninges* fortemente aderentes à parede interna do crânio, onde não se observa nenhum defeito de ossificação.

*Leptomeninges* oferecem um aspecto gelatinoso e os vasos superficiais são grandemente congestos. Secções praticadas em diferentes sentidos no *encéfalo*, põem em evidência, alem de hiperemia, pontos muitos restritos de desintegração tissular.

*Abdome* — Ao corte, os músculos abdominais são delgados e vermelhos e o panículo adiposo reduzido. Bexiga, grandemente dilatada por urina. Fígado, não atinge o rebordo costal, ultrapassando o apêndice xifóide na extensão de dois centímetros.

*Torax* — Cavidades pleurais vasias de líquido e livres de aderências. Saco fibroso do pericárdio contendo líquido em quantidade ligeiramente aumentada.

*Pulmão esquerdo* tem a pleura lisa e delgada. Crepitação, normal ao nivel do lobo superior, é muito diminuida no inferior. Este, ao corte, mostra o parênquima cinzento avermelhado e, pela compressão deixa sair abundante líquido vermelho e espumoso. Gânglios do hilo antracosados.

*Pulmão direito* apresenta leve espessamento da pleura ao nível do lobo inferior. Lobos superior e médio com a crepitação conservada. O lobo inferior, onde a crepitação é abolida, mostra extensas zonas de consolidação e ao corte, o parênquima é cinzento avermelhado e consistente.

*Coração* com o volume aumentado, tem a ponta formada pelo VE. Gordura epicardial, conservada. Pericárdio com areas de espessamento. Aurícula direita contendo coágulos cruóricos. Aparelhos valvulares sem lesões macroscópicas. Parede do VE. espessadas.

*Fígado* pesando 1,600 g e medindo 25x18x18. A cápsula e lisa. Ao corte, o parênquima é de cor castanha, com o desenho lobular nítido, e tem a sua consistência aumentada.

*Baço* aumentado de volume, pesando 230 g. e medindo 13x9x4. Mostra-se flácido, deformando-se quando colocado sobre um plano sólido. A cápsula deixa ver pequenas áreas de espessamento. Ao corte, o parênquima é de cor vermelha escura. Observa-se aumento do tecido linfóide, e a polpa é difluente.

*Rim esquerdo* pesa 200 g. e mede 13x7x3.5. A cápsula, lisa e delgada, destaca-se facilmente. Ao corte, o orgão mostra-se congesto, o desenho piramidal é nítido e a cortical é aumentada e túmida.

*Rim direito* pesa 170 g. e mede 11x6x3. Oferece o mesmo aspecto que o esquerdo.

*Hipófise, suprarrenais, pâncreas* e *estômago,* sem alterações macroscópicas.

*Intestinos* mostram hiperemia da mucosa. De mistura com fezes, foram encontrados quatro exemplares de Áscaris.

Durante a autópsia foram feitas impressões dos orgãos do S. N. central, baço e fígado, nas quais, coradas ao Giemsa, foram vistos os parasitos que serão descritos em seguida. No fígado e no baço foi constatado pigmento malárico.

Infelizmente, terminada a autópsia, a família realizou imediatamente o enterro, de maneira que não foi possivel fazer inoculações em animais.

## LESÕES MICROSCÓPICAS

*Leptomeninges* — De ordinário apresentam hiperemia e moderada infiltração monocitária, sendo as células redondas frequentes em torno de seus vasos sanguíneos. Em relação com as mais severas lesões parenquimais, observa-se inflamação intensa, frequentemente associada à necrose. Aí, podem ser vistos parasitos livres, alterados, e tambem coleções de parasitos (pseudocistos). São numerosos então os polinucleares, os quais vêem associar-se aos linfócitos, plasmócitos e monócitos. Eosinófilos, são tambem aí encontrados, assim como células granulo-adiposas. Capilares e arteriolas, mostram-se hiperplásicos.

*Cérebro* — Foram vistos vários cortes de diferentes regiões do cérebro. As lesões são distribuidas muito irregularmente, sendo predominantes na cortiça. Dois principais tipos de lesões foram encontrados: *a*) zonas inflamatórias mais ou menos extensas, com ou sem necrose; *b*) lesões focais granulomatosas. Ambas aparecem quer na substância branca, quer na cinzenta, sendo todavia muito mais frequentes nesta última. Ao lado dessas, outras lesões, menos caraterísticas, ocorrem em diversos pontos do parênquima. Tais são: edema, hiperemia, hemorragias microscópicas, infiltração de células redondas em torno dos pequenos vasos. Em alguns destes, situados na vizinhança das áreas inflamatórias, nos espaços de Wirchow-Ro-

bin, grandemente aumentados pelo edema, observa-se a presença de linfócitos, plasmocitos e células grânulo-adiposas. Esses vasos mostram hiperplasia da íntima e da adventícia, estando muitos deles congestos (fig. 3).

Na cortiça, nas zonas inflamatórias sem necrose, encontra-se uma infiltração de células redondas, as quais se aglomeram em torno dos pequenos vasos hiperplásicos aí contidos (fig. 4). Os neurônios comprometidos, apresentam vacuolização do plasma ou aglutinação e desaparecimento da substância de Nissl. Nos processos mais avançados, necrose em maior ou menor extensão, ocupa a parte central dessas áreas inflamatórias. Aí então, o exsudato é constituido principalmente por células grânulo-adiposas e polinucleares. (fig. 5).

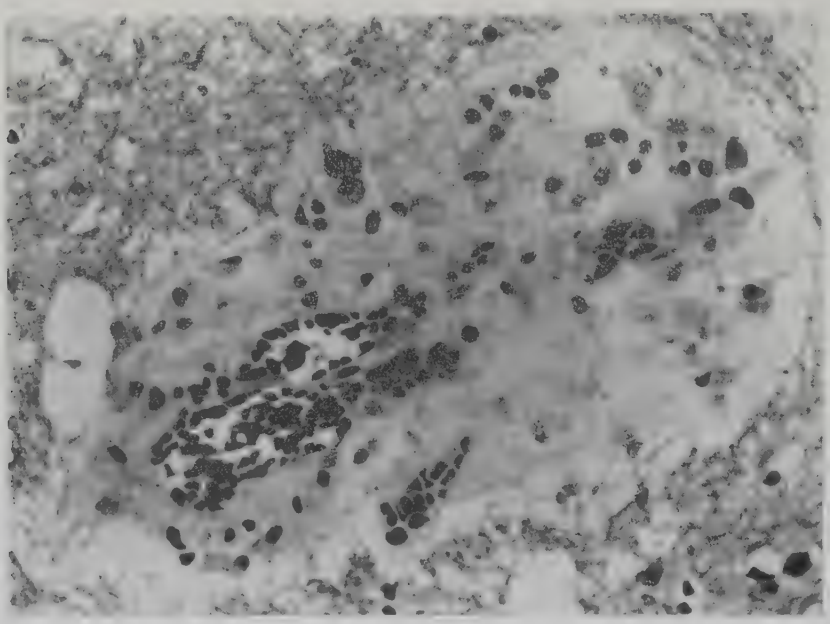


Fig. 3 — Corte de um pequeno vaso cerebral contido em um foco de encefalite. No espaço de Wirchow-Robin, dilatado pelo edema, vêem-se linfocitos, plasmocitos e células granulo-adiposas. Caso-I.

Frequentemente o processo inflamatório atinge as três camadas: zonal, granulosa e piramidal, apresentando esta, nas lesões mais extensas, zonas relativamente consideraveis, nas quais toda a estrutura se mostra alterada, havendo completo desaparecimento das células piramidais. Uma ou outra destas células, ainda existente na periferia, mostra graves lesões (cromatolisis, degeneração vacuolar).

Nessas áreas inflamatórias necróticas, observa-se frequentemente tendência à formação de cavidade cística, no interior da qual aparecem células

grânulo-adiposas e polinucleares. Áreas inflamatórias semelhantes, comprometem tambem em menor intensidade a substância branca.

Próximo às paredes dos ventrículos, acompanhado o epitélio de revestimento em alguns pontos desorganizado, nota-se hipertrofia da glia, cujas células estão aumentadas em número. Pseudocistos parasitários são tambem encontrados na imediata vizinhança do epitélio.

Junto às zonas inflamatórias, de um modo geral, a glia apresenta hipertrofia e proliferação. Nos cortes pela hematoxilina férrica, pode-se observar presença de células em bastonetes. Parasitos são geralmente abundantes nes-

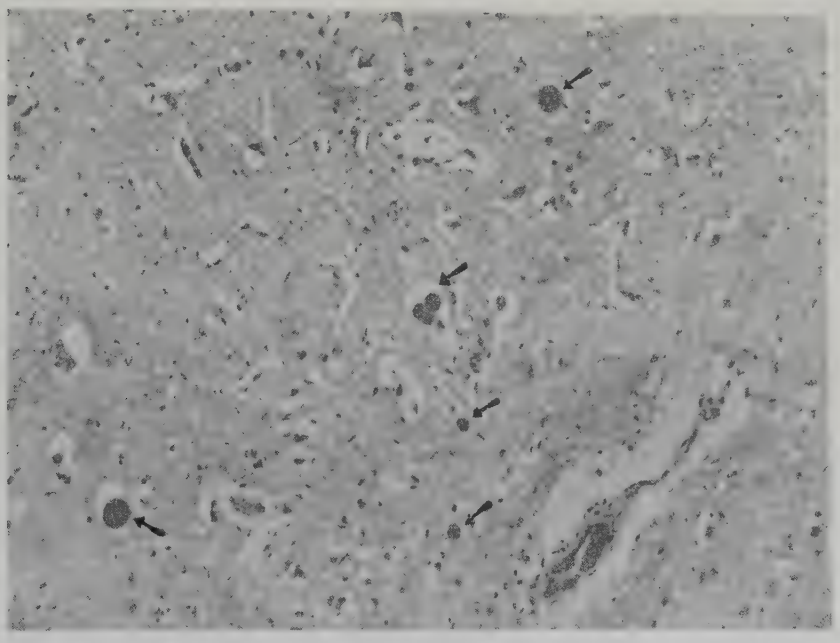


Fig. 4 — Córte de cerebro. Zona inflamatoria com infiltração de células redondas, acentuadas em torno dos vasos. As setas mostram "pseudocistos" de toxoplasmas. Caso-I.

sas lesões, tanto intra — como extracelularmente e, quer isolados, quer em pseudocistos. Tambem, fora dessas lesões graves, a presença dos parasitos é frequente, ocorrendo mesmo em pontos do parênquina aparentemente normais. Nestas condições, entretanto, eles se mostram geralmente intracelulares. As células parasitadas são geralmente elementos da glia, ou dos endotélios vasais, porem, ocasionalmente, neurônios albergam tambem os parasitos. Quando são muito numerosos os parasitos contidos numa célula (pseudocistos) esta não é reconhecivel. Os granulomas, cuja estrutura se repete em todos os orgãos do sistema nervoso central, serão estudados adiante.

*Cerebelo* — As lesões variam muito de intensidade. Enquanto certos cortes mostram lesões mínimas, outros apresentam largas zonas de necrose, atingindo às vezes, todas as camadas do órgão.

No parênquima, a camada molecular apresenta zonas inflamatórias às vezes extensas, acompanhadas de degeneração e necrose, continuando-se com as lesões meningéias. As celulas de Purkinge são tambem mais ou menos alteradas (fig. 6). Teem o plasma vacuolar e o nucleo acidófilo. Outras vezes, estão inteiramente transformadas em massas grosseiras, sem estrutura. Ocasionalmente, sofrem neuronofagia. A camada granulosa é tambem atin-

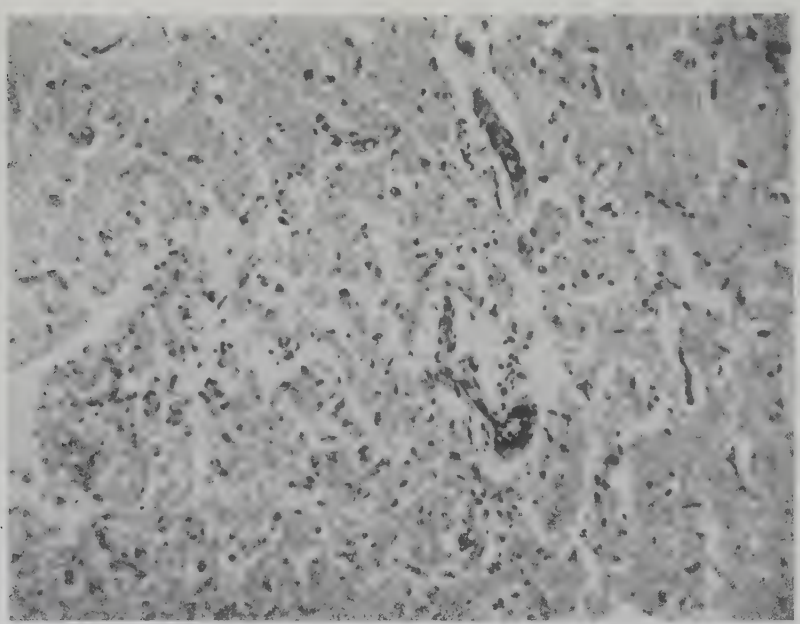


Fig. 5 — Cerebro. Área inflamatoria da cortiça. Polinucleares e células granulo-adiposas constituem o fóco. Dois pequenos vasos são comprometidos no processo. Caso-I.

gida pela inflamação e necrose em áreas de maior ou menor extensão. Os eosinófilos estão sempre presentes, sendo às vezes, relativamente abundantes. Alem de macrófagos mononucleares, veem-se tambem aí, grandes células com três e quatro núcleos. Entre as células inflamatórias alteradas, encontram-se alguns parasitos. A substância branca é, pouco lesada. Em torno de seus pequenos vasos sanguíneos, hiperplásicos, agrupam-se células monocíticas, raras. Mas, junto aos grandes focos inflamatórios necróticos comprometendo toda a granulosa, ela compartilha tambem do processo, embora menos intensamente. De um modo geral há hipertrofia e proliferação da glia.

Os granulomas são encontrados indistintamente em todas as camadas, sendo raros na granulosa e mais frequentes na camada molecular (fig. 7). Nesta, são tambem mais frequentes os pseudocistos parasitários, os quais são vistos tanto nas proximidades das lesões como afastados das mesmas.

*Bulbo e protuberância* — As lesões aquí são menos intensas que no cérebro e cerebelo. Veem-se pequenos focos inflamatorios com proliferação da glia. Raras zonas inflamatórias apresentam centro necrótico, na vizinhança do epitélio ependimário, de células entumecidas. No interior do canal, em pequenos pontos onde o epitélio é mais lesado, aparece um exsudato com

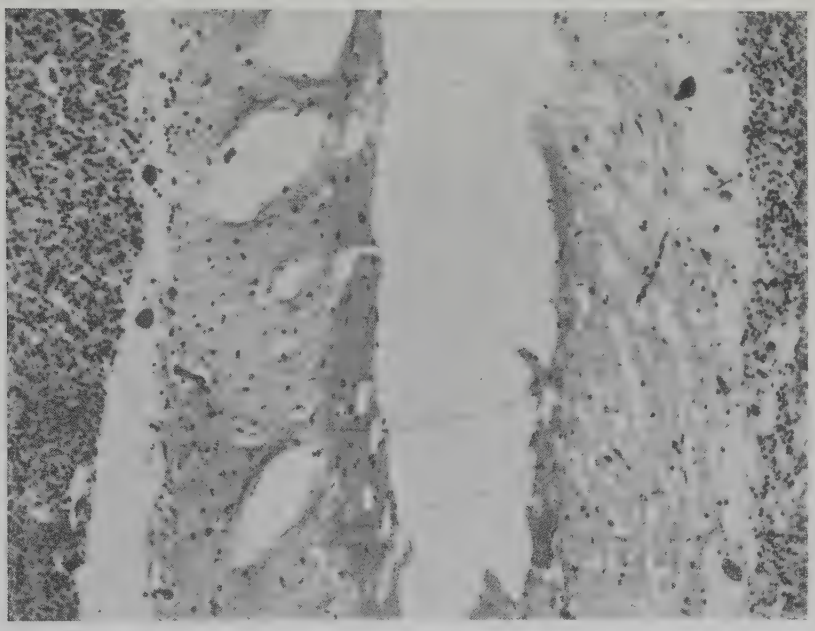


Fig. 6 —Cerebêlo. Extensa inflamação e necrose atingindo até a camada granulosa. As células de Purkinge aparecem aí transformadas em massas hialinas sem estrutura. Caso-I.

raras células redondas e hemácias. Pequenos vasos, congestos e hiperplásicos, apresentam-se circundados por células redondas. Hemorragias microscópicas, aparecem na substância cinzenta. Os parasitos, relativamente raros, aparecem mais frequentemente reunidos em pseudocistos. Granulomas, semelhantes aos encontrados no cérebro e de distribuição irregular, aparecem tanto na substância branca como na cinzenta.

*Medula* — Na substância branca as lesões são mínimas. Alem do edema, concentração perivascular moderada de células mononucleares pode ser

observada. Raros pseudocistos são encontrados, sem nenhuma reação inflamatória em torno. Na substância cinzenta, as lesões são tanto mais acentuadas quanto mais próximas do canal central. O epitélio ependimário mostra-se desorganizado e proliferado (fig. 8), e está em grande parte desaparecido, tendo arrastado consigo porções necrosadas do tecido nervoso. Células inflamatórias, raras, mono — e polinucleares, ao lado de elementos gliais proliferados, avançam pelo cordões. Em torno da porção destacada, veem-se zonas necrosadas e soluções de continuidade no tecido nervoso. Edema e células inflamatórias monocitárias cercam os vasos sanguíneos. Gra-

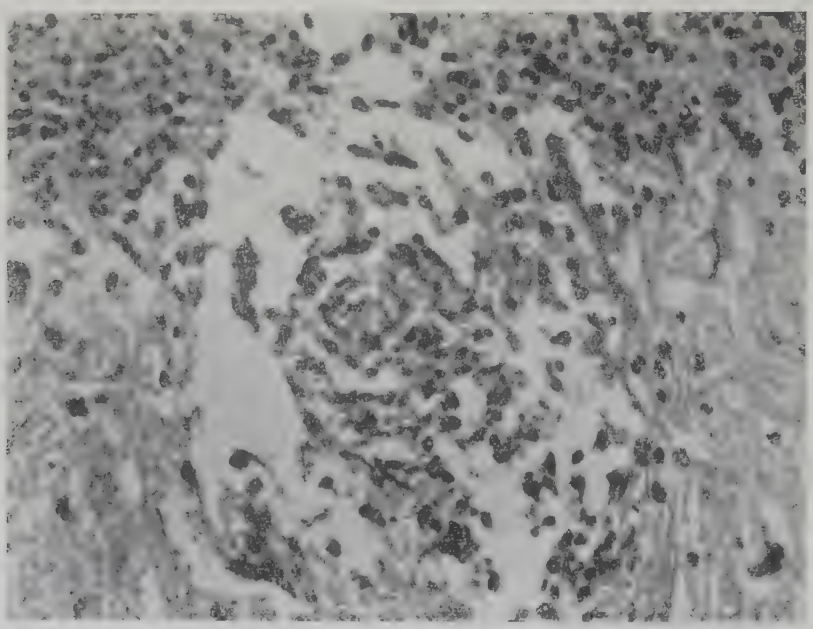


Fig. 7 — Corte de cerebelo. Granuloma localizado na camada molecular. Podem ser vistas células de Purkinge degeneradas. Caso-I.

nulomas raros, e geralmente junto destes últimos, podem ser encontrados. Hemorragias microscópicas, que raramente ocorrem na substância branca, são aquí frequentes.

Alguns neurônios, principalmente dos cordões posteriores, sofrem cromatólise. Os parasitos, pouco abundantes, são encontrados tambem agrupados em pseudocistos na vizinhança das lesões.

*Granulomas* — A presença dos granulomas é o principal caraterístico das lesões encontradas no sistema nervoso central. São nódulos miliares e submiliares espalhados com grande irregularidade no tecido nervoso, tanto

na substância branca como na cinzenta. Certos cortes os mostram em número reduzido, ao passo que em outros, eles são relativamente abundantes, principalmente no cérebro e cerebelo. Na medula, de um modo geral, são raros. Quase todos se mostram organizados junto de pequenos vasos sanguíneos (fig. 9) e, cortes seriados, provavelmente poriam em evidência essa relação vascular, naqueles granulomas em que os vasos não aparecem. São formações arredondadas ou ovais e tanto sua forma como sua estrutura, são praticamente as mesmas em todos os orgãos do neuroeixo. Em pequeno nú-

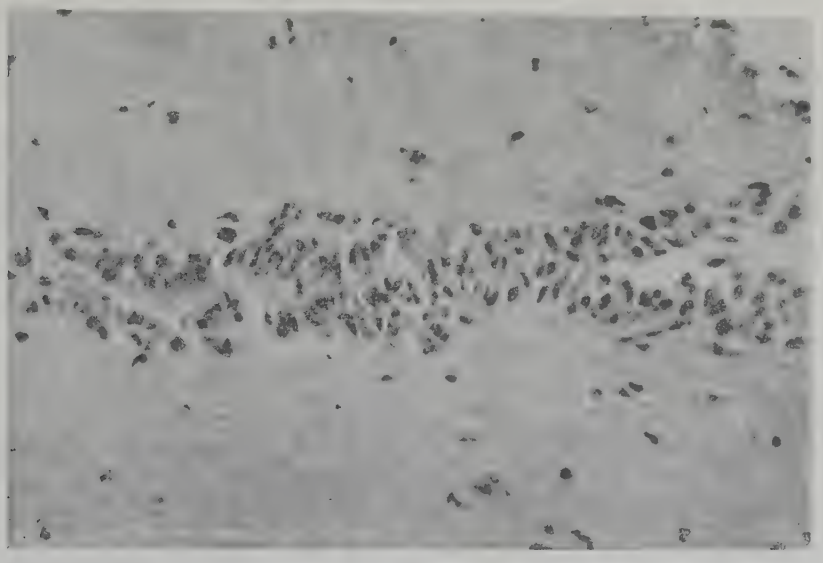


Fig. 8 — Corte transverso da medula cervical, mostrando acolamento das paredes do ependíma e proliferação do epitelio ependímario. Caso-I.

mero deles, porem, não se observa uma estrutura granulomatosa típica. As medidas feitas em 20 granulomas, mostraram diâmetros variando desde 67 x 67 micra até 222 x 166 micra, sendo mais numerosos os diâmetros compreendidos entre 110 e 150 micra.

Eles são constituidos principalmente por grandes células alongadas de forma muito irregular, frequentemente poligonais, medindo de 8 a 16 micra em seu maior diâmetro. O núcleo, claro, vesiculoso, mostra-se geralmente arredondado ou oval, outras vezes muito grande e irregularmente chanfrado; a substância cromática dispondo-se em um a três grânulos, ligados à membrana nuclear por filamentos. Em algumas destas células, o núcleo é corado mais intensamente, embora conserve a mesma estrutura. O plasma cora-se pela eosina e, às vezes, apresenta-se vacuolar. Estas células manteem estreita relação entre si,

parecendo frequentemente anastomosarem-se reciprocamente. Raramente, elas aparecem organizadas em torno de uma célula completamente cheia de parasitos (pseudocisto), (fig. 10) e, frequentemente, algumas delas encerram pequeno número de parasitos em seu plasma. Essas células parecem originar-se à custa de transformação da "glia". Os capilares relacionados aos granulomas, sofrem hiperplasia da íntima, e as arteriolas, tambem hiperplasia adventicial.

Alem das células epitelióides, células redondas em muito menor número tomam parte na constituição dos granulomas. A maior frequência é de linfocitos, sendo estes mesmos, às vezes, extremamente raros, contando-se apenas

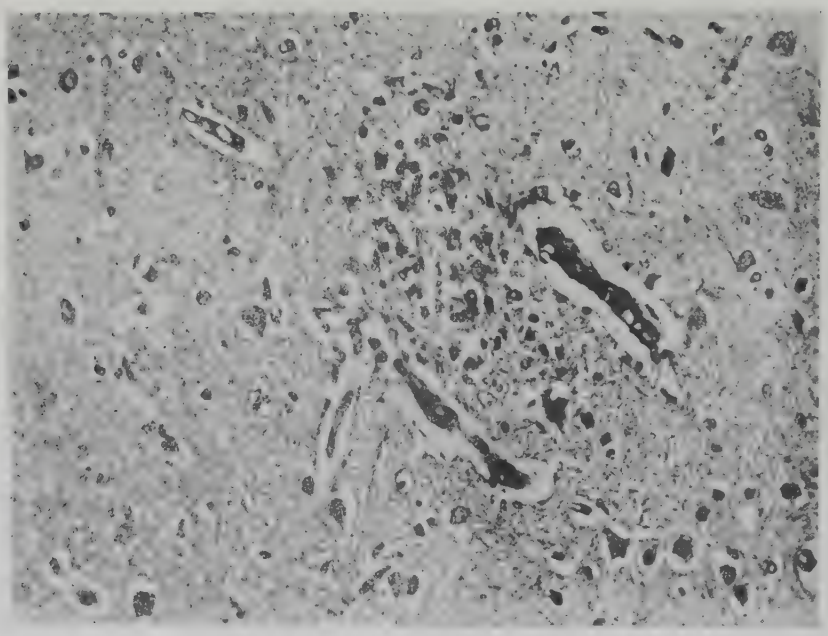


Fig. 9 — Corte de cérebro. Granuloma mostrando estreita relação vascular. Caso-1.

dois ou três por corte. Excepcionalmente, podiam ser tambem encontrados eosinófilos. Todos esses elementos, não assumem nenhuma disposição regular; dispoem-se arbitrariamente entre as células epitelióides.

Frequentemente, os elementos celulares dos granulomas são afastados pelo edema (fig. 11). Alguns deles, raros, apresentam degeneração de suas células mais centrais. Aí, observam-se tambem parasitos livres, a maior parte com sinais de alteração. Excepcionalmente, pode-se ver um granuloma com o centro em completa necrose. Muitos granulomas não mostram nenhum parasito, quer intra quer extracelularmente, talvez porque os cortes não os tivessem atingido.

*Hipófise* — No lobo anterior, encontram-se largas zonas de necrose invadidas por polinucleares. (fig. 12). Aí, parasitos livres, tambem alterados, são vistos ao lado de resíduos nucleares. De um modo geral, as células acidófilas parecem diminuidas em número, e, mesmo fora das áreas necróticas, os cordões celulares apresentam elementos degenerados. Uma infiltração difusa, moderada, de células redondas (linfocitos, plasmocitos e macrófagos) espalha-se no estroma, reunindo-se em torno dos pequenos vasos, os quais apresentam hiperplasia da íntima. Em células cromófilas aparentemente ín-

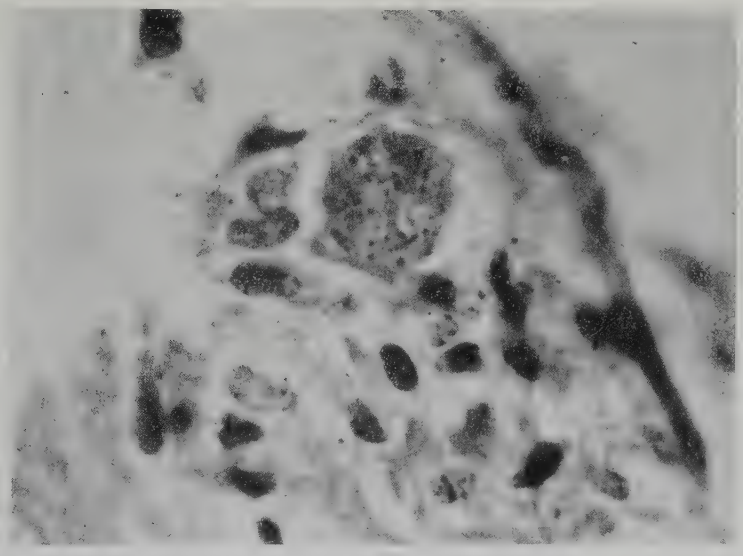


Fig. 10 — Cerebro. Foco granulomatoso centrado por uma célula cheia de parasitos, na qual o núcleo é bem nítido. Caso-1.

tegras, os parasitos aparecem geralmente isolados. Assim tambem nos endotélios capilares. Quando as células continentes estão alteradas, os parasitos tambem mostram maior ou menor sinal de degeneração: núcleo picnótico, plasma vacuolar, corado palidamente.

*Coração* — No "pericárdio" observa-se uma infiltração de células mononucleares, as quais às vezes se reunem em focos circunscritos, geralmente na vizinhança de capilares (fig. 13). Os elementos aí encontrados são plasmocitos, linfocitos, grandes monocitos, sendo os eosinófilos e os polinucleares em menor número. Encontram-se aí tambem grandes células poligonais de plasma eosinófilo e núcleo único, as quais medem de 15 a 25 micra. Estão geralmente situados entre as células adiposas, e muitas delas mostram sinais de degeneração. São provavelmente de origem histiocitária. Às vezes

as células infiltrativas aglomeradas mostram sinais de necrose. Essa infiltração monocítica do pericárdio invade ocasionalmente o parênquima através do tecido conjuntivo. Os parasitos, relativamente raros, podem ser vistos reunidos em pseudocistos, organizados em células provavelmente de origem adventicial (fig. 14).

No "endocárdio", observa-se às vezes infiltração celular, descontínua e em grau muito menor.

No parênquima, observam-se focos de miocardite com ou sem necrose central. Os elementos que aí se encontram são, de um modo geral, os mesmos

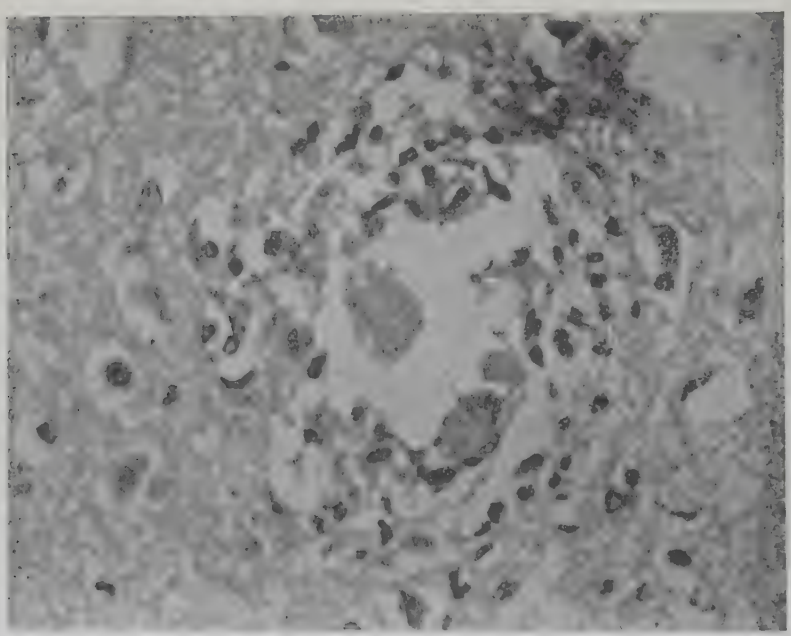


Fig. 11 — Corte de cérebro. Granuloma apresentando edema e degeneração de seus elementos mais centrais. São vistos numerosos parasitos alterados. Caso-I.

que infiltram o pericárdio, sendo todavia bem maior a ocorrência de eosinófilos. Capilares, pre-capilares e arteríolas comprometidas no processo, apresentam acentuada hiperplasia da íntima, e tambem da adventícia nestas últimas. E' à custa dessa hiperplasia adventicial que parece originarem-se os grandes macrófagos que tomam parte no processo.

Nos estádios iniciais, as poucas fibras cardíacas comprometidas, perdem a estriação, e teem o mioplasma transformado em blocos homogêneos, quando o núcleo ainda é íntegro ou pouco alterado. Junto às mesmas veem-se pequenos vasos hiperplásicos cercados de raras células redondas e macrófa-

gos. Este aspecto pode ser visto muito bem nos cortes transversais. Avançando o processo, essas fibras terminam por necrosar-se completamente, sendo invadidas pelos macrófagos e polinucleares. As células infiltrativas, que aumentaram em número, envolvendo novas fibras, acabam tambem participando da necrose, isto é, aquelas situadas no centro do processo. Observam-se então, massas hialinas com resíduos nucleares, circundadas pelas células inflamatórias e fibrina onde estão imersas fibras cardíacas mais ou menos alteradas.

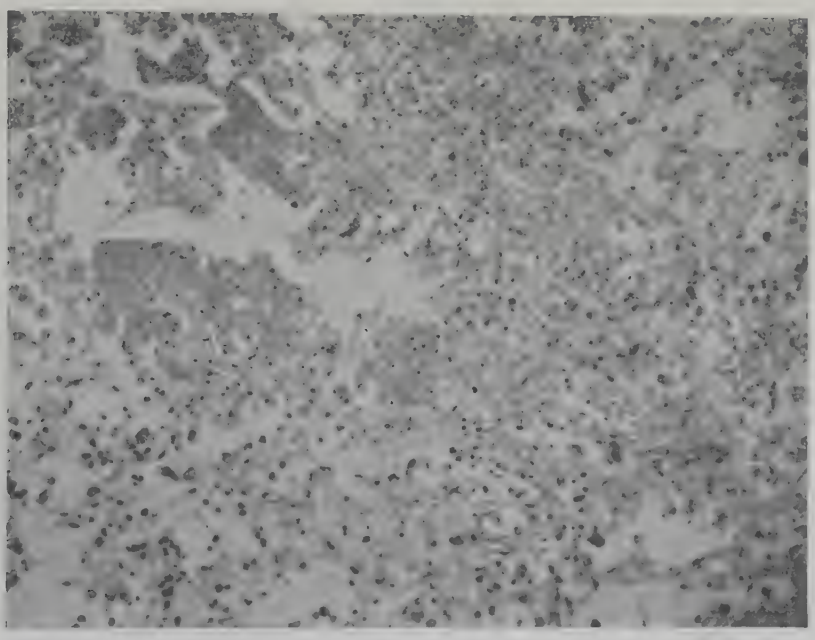


Fig. 12 — Hipofise. Corte do lobo anterior mostrando inflamação e necrose. Células mono — e polinucleares constituem o exsudato inflamatório. Na parte menos lesada observa-se descamação do revestimento tubular. Caso-I.

Às vezes, a inflamação perde o carater focal, estendendo-se a largas zonas. As paredes dos vasos de maior calibre, são tambem circundadas e invadidas pelos mesmos elementos infiltrativos. Lipofucsina é abundante em todo o parênquima.

Os toxoplasmas ocupam no coração não somente as fibras cardíacas, mas tambem os endotélios capilares e os macrófagos de infiltração. Nas fibras o parasitismo parece iniciar-se ao nivel do sarcoplasma perinuclear. Com efeito, muitas vezes, são aí encontrados parasitos em número limitado (2, 3, a 6). Daí a multiplicando-se ativamente, eles comprimem de encontro o sarcolema os feixes de miofibrilas, e formam as grandes coleções, que acompa-

nham o eixo longitudinal da fibra, chegando a medir até 90 micra de comprimento. Em fibras incluidas nos focos inflamatórios ou situadas na sua periferia, é comum o encontro de aglomerados parasitários. Mas tambem em zonas aparentemente íntegras, sem lesão inflamatória circundante, é frequente a observação de fibras parasitadas, as quais não parecem lesadas pela presença do parasito (fig. 15).

O fato de se encontrarem células parasitadas sem lesão inflamatória circundante, faz suspeitar que esta última é resultante do rompimento daquelas, com o consequente derrame dos parasitos no estroma. Entretanto, se

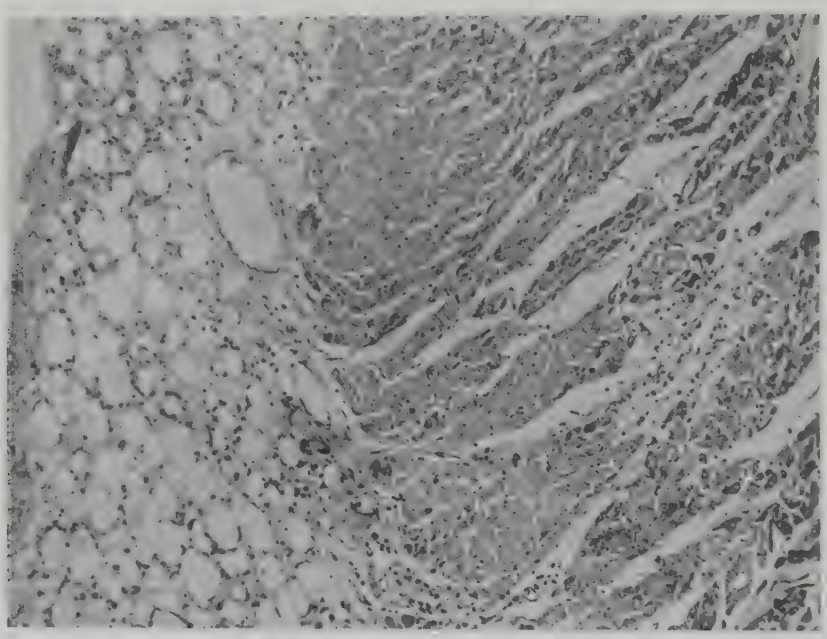


Fig. 13 — Corte do ventrículo esquerdo, mostrando pericardite e miocardite. Caso-I.

às vezes, parasitos livres são vistos no centro inflamatório, outras vezes o que aí se constata é um pseudocisto bem delimitado, alem de que, frequentemente, nenhum parasito é visto centrando tais lesões (fig. 16).

*Fígado* — A lesão característica no fígado é representada pela existência de pequenos nódulos inflamatórios, com o centro necrótico, os quais são vistos espalhados no parênquima em número de três a quatro por corte (figura 17). Tais formações, arredondadas ou ovais, medem de 90 a 150 micra de diâmetro e são constituidas principalmente por grandes células poligonais, de plasma eosinófilo e núcleo único, vesiculoso. Esses elementos medem de 10 a 15 micra, e alguns conteem núcleos picnóticos englobados, núcleos

esses pertencentes às células hepáticas necrosadas, as quais se encontram envolvidas no processo em diferentes estádios de degeneração. Ao lado desses grandes macrófagos, são vistos, plasmocitos, linfocitos, e eosinófilos e polinucleares raros. As células de Kupfer, mostram-se hiperplásicas e, nos sinusóides, em maior número que em condições normais, existem células mononucleares.

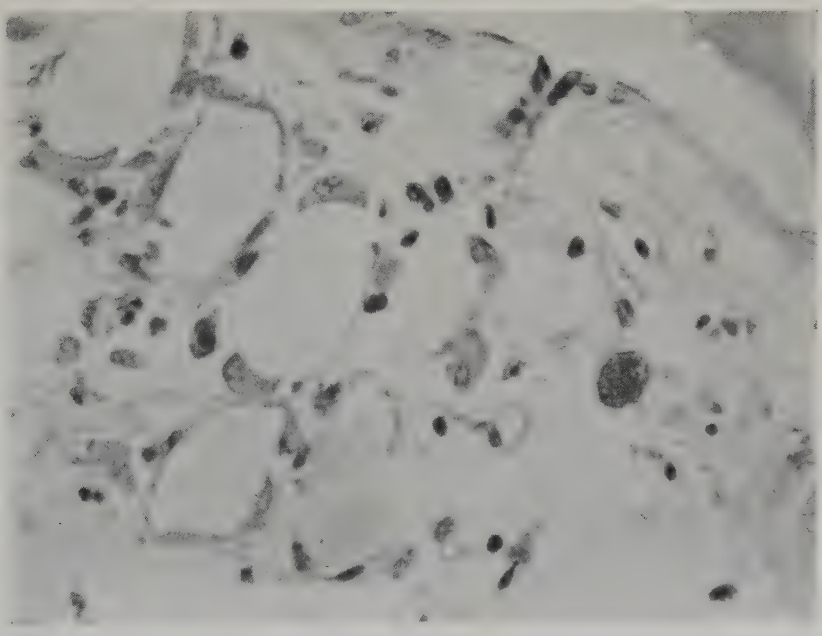


Fig. 14 — Pericardio. Células redondas e grandes macrofagos histiocitarios, aparecem entre as células adiposas. Á direita vê-se um pseudocisto parasitario organizado provavelmente em uma célula adventicial. Caso-I.

Os parasitos, são pouco frequentes no fígado. Isolados ou em número de dois a três são vistos nas células de Kupfer e nas células poligonais dos nódulos inflamatórios, onde, no centro, às vezes, se encontram livres. Tambem nas células hepáticas encontram-se formas isoladas. Só foi visto um pseudocisto (fig. 18). (Tanto as células de Kupfer, como os macrófagos dos nódulos inflamatórios, encerram tambem pigmento malárico).

*Pâncreas* — Raros acúmulos de células redondas, em maior ou menor número, são vistos nos septos conjuntivos. No interior dos lobos, esses elementos se reunem geralmente em torno dos capilares e arteriolas, os quais mostram hiperplasia da íntima. Essa infiltração, atinge, às vezes, zonas relativamente extensas. Entre as células infiltrativas, figuram linfocitos, plasmocitos,

ao lado de grandes monocitos. Ocasionalmente, encontram-se tambem polinucleares e eosinófilos. Em certas áreas, os alvéolos se apresentam mais ou menos alterados, sofrendo até necrose completa. Vários alvéolos mostram-se ectásicos, contendo no seu interior um exsudato composto de células mono e polinucleares. Um tecido conjuntivo infiltrado de células redondas, substitue em pontos limitados, porções desaparecidas do parênquima. Algumas "ilhotas" tambem oferecem degeneração e necrose celulares, com invasão de células inflamatórias do tipo monocitário (macrófagos).

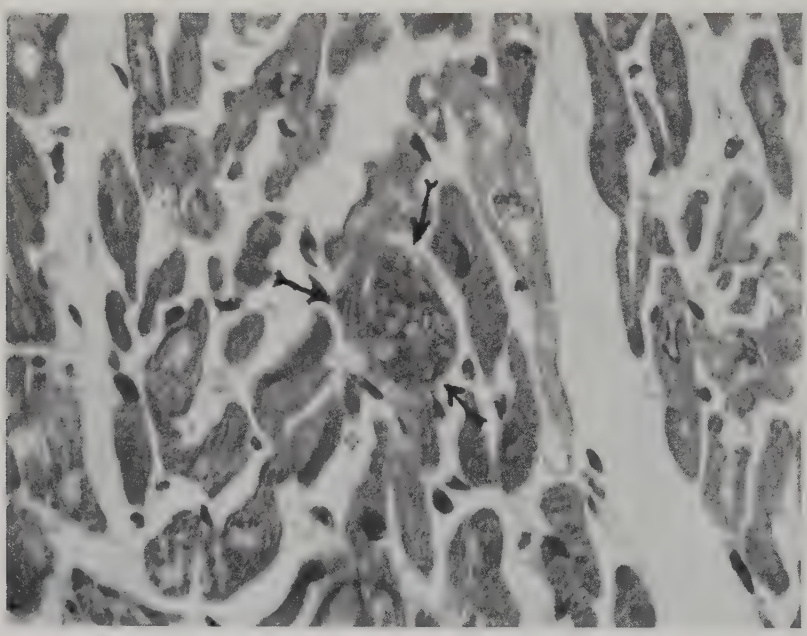


Fig. 15 — Miocardio. Fibra parasitada, sem reação inflamatoria circundante apreciavel. Caso-I.

Não somente nas zonas lesadas, mas em outras aparentemente íntegras, são vistos raros parasitos, isolados ou em pequeno número, ocupando os endotélios capilares e as células pancreáticas.

*Pulmão* — Broncopneumonia. Em alguns pontos, nos septos alveolares e em torno dos vasos e bronquíolos, infiltração monocítica. Aí, ocasionalmente, podiam ser vistos parasitos isolados ou agrupados nas paredes alveolares. Nos alvéolos, ao lado dos polinucleares, e, às vezes, em muito maior número que estes, eram vistos grandes macrófagos derivados das células alveolares, as quais se mostravam entumescidas, com tendência à transformação cubóide.

*Intestino delgado* — No intestino delgado, nada mais foi encontrado na mucosa alem de hiperemia. Na muscular, ao nivel dos microgânglios nervosos (*plexus* de Meisner e Auerbach) observou-se infiltração de células redondas e polinucleares. Os neurônios aí eram mais ou menos lesados, alguns sofrendo neuronofagia. Raríssimos parasitos podiam ser observados entre os elementos de infiltração.

*Baço* — Esplenite aguda. Hiperplasia do retículo e dos endotélios. Encontro fortuito de parasitos isolados.

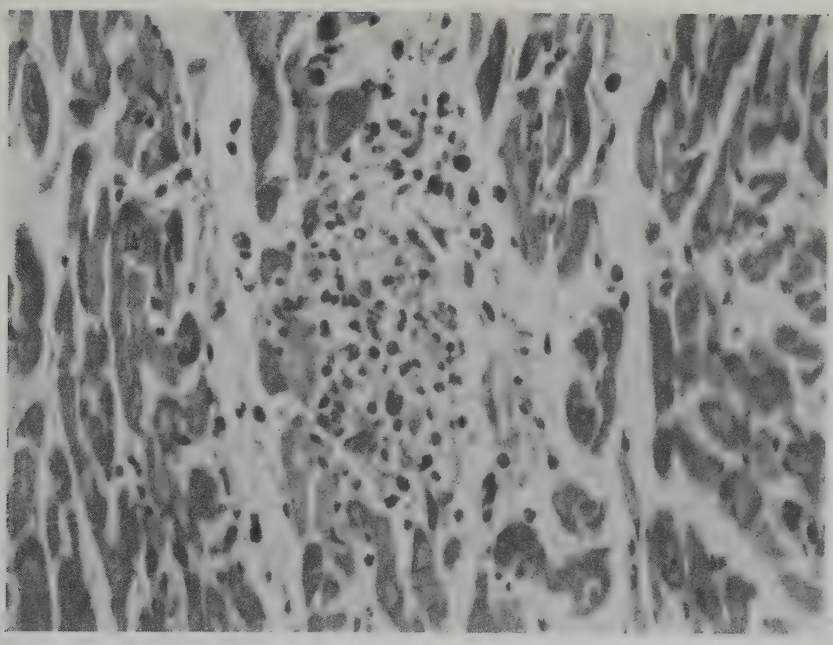


Fig. 16 — Foco de miocardite, no qual não é visto nenhum toxoplasma. Caso-I.

*Rim* — As lesões renais são principalmente parenquimatosas. Espalhados na cortical, veem-se focos degenerados, parecendo consequentes à trombose de pequenos vasos. Cilindros hemorrágicos, enchem numerosos tubulos. Ocasionalmente, encontram-se acúmulos restritos de células redondas, relacionados aos vasos sanguíneos. Excepcional, é a presença dos parasitos, sempre isolados, junto a esses pequenos nódulos infiltrativos e nos endotélios capilares.

*Gânglios* — Linfadenite. Grande hiperplasia dos endotélios, e tambem do retículo. Não foram encontrados parasitos.

*Suprarrenais* — Não foram encontrados parasitos.

## ESTUDO DO PARASITO

Os microorganismos aquí estudados, mostraram-se geralmente como parasitos intracelulares. Intracelularmente, se apresentavam ora isolados, ora em maior ou menor número com disposição arbitrária, ora agrupados formando pseudocistos. Raramente eles eram vistos livres. Nestas condições eram observados nas áreas de necrose e, tal aspecto, parecia resultante da degeneração e rutura das células continentes. Aí, o parasito sofria tambem o efeito degenerativo, traduzido por palidez plasmática e picnose nuclear.

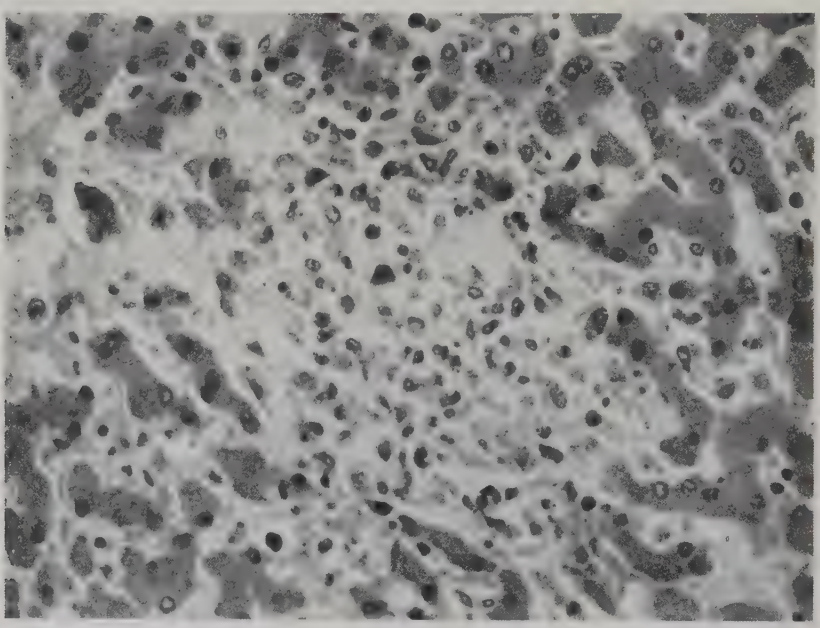


Fig. 17 — Foco inflamatorio necrótico no parenquima hepatico. Vêem-se polinucleares raros e macrofagos, êstes derivados provavelmente dos células de Küpfer. Caso-I.

O estudo microscópico revelou em primeiro plano o parasitismo dos órgãos do sistema nervoso central acompanhados do miocárdio. Nos orgãos nervosos, as células parasitadas eram representadas por elementos da neuroglia, endotélios capilares, células epitelióides dos granulomas, macrófagos polinucleares, sendo ocasional o parasitismo dos neurônios. Um grupo de seis parasitos foi visto aparentemente no cilindro-eixo de uma célula piramidal. Não foram vistos parasitos no epitélio ependimário nem nas cavidades que ele reveste. Tanto no interior das zonas inflamatórias e dos granulomas, como junto aos mesmos, os parasitos eram abundantes. Frequente-

mente, estes tambem eram encontrados em pontos onde existiam apenas lesões discretas e, mesmo em outros onde havia integridade estrutural (figura 19), sendo este fato observado em todos os órgãos do sistema nervoso central, e com maior frequência na medula espinhal. Nas meninges, nos pontos correspondentes às áreas inflamatórias do encéfalo, tambem eram encontradas células com maior ou menor número de parasitos.

O parasitismo do coração era intenso. Alem das fibras cardíacas, elementos mesenquimatosos tambem eram parasitados, embora em menor intensidade. E' assim que os parasitos podiam ser vistos nos endotélios dos capi-

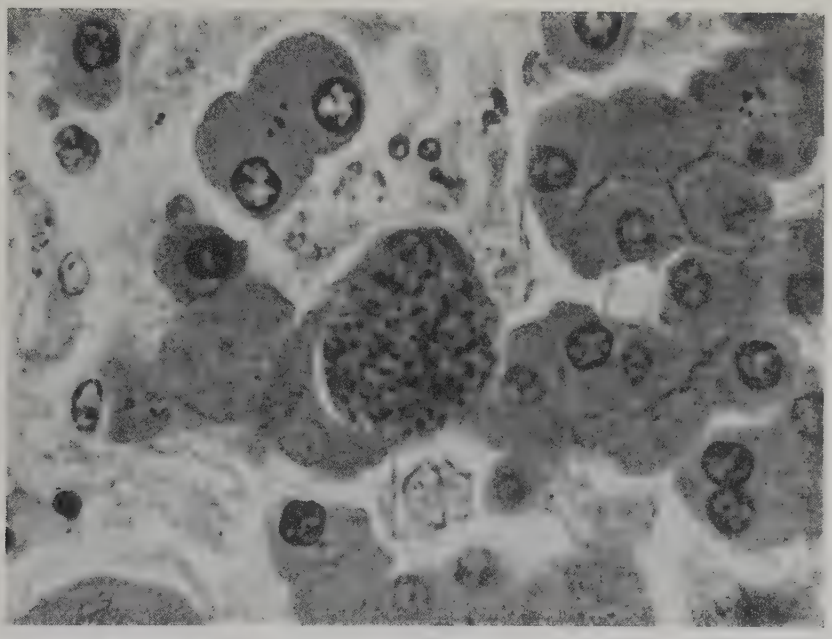


Fig. 18 — Pseudocisto parasitario contido provavelmente numa célula de Küpfer e comprimindo as células hepaticas. Estas não se mostram alteradas. Caso-1.

lares e em macrófagos provavelmente de origem adventicial e, não só no miocárdio, como tambem no pericárdio. Como no sistema nervoso central, no coração tambem era observado o parasitismo em zonas aparentemente normais.

Na hipófise e no pâncreas, os parasitos podiam ser encontrados, ocupando não só o endotélio dos capilares, como tambem as próprias células glandulares. No fígado, as células de Kupfer e mais raramente as células hepáticas, albergavam parasitos, raros, em zonas em que havia ausência de lesão inflamatória. Por outro lado, nos focos inflamatórios espalhados no parên-

quima, poucos parasitos podiam ser vistos contidos em celulas aí existentes. No pulmão, eram poucos os parasitos e no baço e rim, seu encontro era acidental. No intestino, junto aos microgânglios nervosos da muscular, o mesmo poude ser observado. Nos gânglios linfáticos e suprarrenal, os parasitos não foram encontrados. Não foi possivel encontrá-los tambem no sangue, quer nos estiraços e gotas grossas feitos em vida, quer nos cortes de vasos; nem livres nem em macrófagos ou polinucleares. Outros orgãos não foram examinados.

Os parasitos apresentam pequenas diferenças de ordem morfológica e de talhe, segundo são estudados nos cortes ou nas impressões de orgãos. Estes últimos preparados facilitam a observação de certos detalhes estruturais, não evidenciaveis na intimidade tissular, embora se prestem a confusão, fornecendo aspectos irreais.

*Impressões de orgãos* — Estas preparações foram feitas com os orgãos do sistema nervoso central e coradas pelo Giemsa com fixação prévia pelo álcool metílico. Nelas, são numerosos os parasitos livres, os quais na sua maioria são consequentes à rutura dos pseudocistos por ação mecânica na feitura do preparado. (Estampa I, fig. 15). Microorganismos isolados ou em número de dois a cinco incluidos no plasma de polinucleares, e de macrófagos, e aí tomando uma disposição arbitrária, são tambem encontrados. (Estampa II, fig. 3). Esses macrófagos teem às vezes o plasma completamente tomado pelos parasitos, estando o núcleo disposto na periferia (pseudocisto). São numerosos os pseudocistos, nos quais não é visto nenhum resquício da célula continente.

Os *parasitos isolados,* apresentam os caracteres seguintes: *"Forma"* — De um modo geral, são falciformes ("em crescente"), com maior ou menor curvatura, sendo uma das extremidades frequentemente mais afilada que a outra (Estampa II, fig. 8). Às vezes um dos bordos do parasito é retilíneo e o outro convexo. Parasitos fusiformes, ovais (e ovais alongados) são tambem vistos (Estampa II, fig. 8).

*"Tamanho"* — Das medidas realizadas sobre 300 exemplares, verificou-se que, nestes preparados, o tamanho do parasito varia de 3.3 a 6.5 micra de comprimento e de 1.0 e 3.5 micra de largura, sendo frequentemente, mas não sempre, os exemplares mais longos os menos largos. A média se encontra entre 4 a 4.5 micra de comprimento por 1 a 1.5 *micron* de largura.

*"Plasma"* — O protoplasma mostra-se corado em azul, sendo às vezes a zona periférica tingida mais intensamente que a central. Em alguns exem-

plares a coloração azul é particularmente intensa. Em torno do núcleo é constante a existência de um halo claro, descorado. Raramente, granulações grosseiras róseo-arroxeadas, são vistas em pequenos acúmulos isolados, ou irregularmente esparsas em todo o plasma. Muitos parasitos mostram no plasma, alem do núcleo uma formação mais ou menos regular, medindo 0.3 *micron* e corada em violeta intenso (*corpo paranuclear*) (Estampa II, fig. 8-A). Pode acontecer que vários parasitos juntos apresentem tal formação, de modo que, a um exame rápido, poderiam ser tomados por leishmanias.

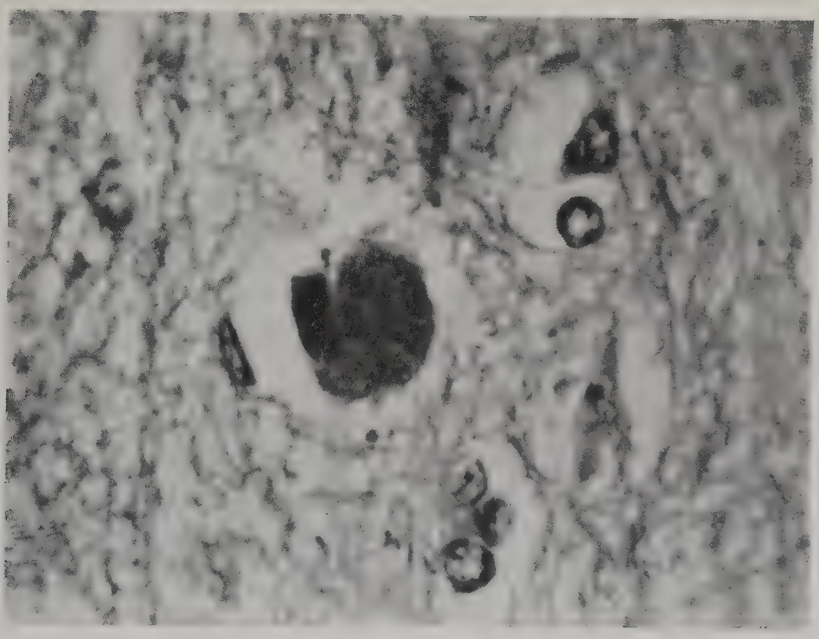


Fig. 19 — Pseudocisto parasitario, situado junto de um capilar em zona aparentemente normal do cérebro. Não é visto o núcleo da célula continente. Caso-1.

*"Núcleo"* — O núcleo único, mostra-se nestes preparados, granuloso e de contornos irregulares. E' geralmente excêntrico. Em 150 exemplares, apenas 21 tinham o núcleo na parte central. A cromatina, corada em violeta, dispõe-se frequentemente em grânulos e bastonetes, os quais assumem uma disposição irregular; às vezes, o núcleo se apresenta em anel, mas, raramente, se mostra redondo. Este fato, como iremos ver pelo estudo dos cortes, constitue um artifício de técnica. O núcleo mede de 1 a 2 micra de diâmetro e, em geral, ele ocupa toda a largura do parasito, exceto nas formas ovais e tambem naquelas que, embora se ajustem aos tipos morfológicos descritos como "em crescente" plano-convexas e fusiformes, apresentam-se muito

ricas de plasma e de extremidades rombas. Tais formas representam exemplares preparando-se para dividir-se.

O parasito parece multiplicar-se exclusivamente por divisão binária longitudinal. As formas de divisão apresentam-se frequentes. (Estampa I, figuras 3 e 4 e Estampa II, fig. 8-b). São parasitos largos, de citoplasma abundante e geralmente de forma oval ou arrendondada. Mostram, dois núcleos colocados lado a lado em um mesmo plano em relação ao eixo longitudinal por onde se processará a separação dos dois elementos. Excepcionalmente, esse plano de divisão mostra-se em diagonal. (Estampa I, fig. 14 e Estampa, II. fig 8-c).

Alguns parasitos, mostram o plasma corado grosseiramente em róseo e vacuolar. Tais elementos apresentam geralmente lesões nucleares (picnose) e representam organismos degenerados. Devem provir das áreas de necrose, assim como aqueles englobados nos polinucleares, pois, tais parasitos, frequentemente, mostram lesões semelhantes. Por outro lado, esses polinucleares tambem apresentam sinais de alteração (vacuolização, aglutinação das granulações, separação dos lóbulos nucleares).

Os *pseudocistos* são coleções de parasitos redondos ou ovais. Nestes preparados, muitas vezes não são evidenciaveis os elementos celulares onde os mesmos se formaram, consequência, naturalmente, de um efeito mecânico. Assim é que, muitos deles estavam rompidos. Todavia, como numerosos mostravam-se íntegros, inclusive alguns de talhe reduzido, isto faria suspeitar a existência de uma membrana isolando-os das células continentes. Entretanto, como tal membrana, não poude ser evidenciada, parece claro que os parasitos provenientes de um mesmo exemplar penetrado numa célula, guardam entre si relações de contiguidade estreitas. Os aglomerados de parasitos de maior diâmetro, são delimitados pelo próprio plasma, sendo o núcleo rechaçado para a periferia (Estampa II, fig. 7). O tamanho desses pseudocistos é extremamente variavel. Medidas feitas em 50 deles, demonstraram diâmetros variando desde 6.5 x 4.4 micra até 54.3 x 45.6 micra. Do mesmo modo, varia ao extremo o número de parasitos contidos nos mesmos, contando-se desde poucos exemplares até muitas centenas deles. Em 30 pseudocistos em que foram contados os parasitos, obteve-se, entre outros, tais números: 7, 16, 20, 38, 60, 110, etc., até quantidades incontaveis (Estampa I, figs. 6 a 13).

Nestes preparados, frequentemente não são reconheciveis os contornos dos parasitos incluidos nos pseudocistos de maior diâmetro. Tais aspectos dão a impressão da ocorrência de um processo esquizogônico. Com efeito, neste caso, o conjunto oferece um aspecto sincicial, observando-se tão somente uma lâmina plasmática contínua, corada em azul-arroxeado, na qual se encontram espalhados os grânulos de cromatina, tingidos de violeta (Estampa I, figs. 8,

11, 12 e Estampa II, fig. 4). Entretanto, muitas vezes, e principalmente nos peseudocistos de talhe reduzido, os parasitos mostram-se bem individualizados (Estampa I, figs. 6, 7, 9 e Estampa II, figs. 2 e 5), o que parece demonstrar que o aspecto sincicial nada mais é que um artifício de técnica decorrente do preparado. E tanto parece ser verdade, que não são vistos estádios iniciais de esquizogonia.

Nos *cortes*, os parasitos isolados mostram-se ovais. Alguns são alongados e recurvos. Parecem estar contidos sempre num vacuolo, no interior das células parasitadas. Medem de 1.5 a 3.3 micra de comprimento por 1.0 a 2.5 micra de largura, a maioria medindo entre 2 a 3 micra de comprimento e entre 1 e 2 micra de largura. O protoplasma cora-se de róseo pela eosina e o núcleo, ora compacto, ora vesiculoso, apresenta-se excêntrico, de contornos regulares e sempre redondo, medindo de 0,8 a 1 *micron* de diâmetro. Em torno do mesmo, é constante no plasma a presença de um halo claro, descorado. As formas de divisão, binucleadas, apresentam-se arredondadas. Pelo método de Mann, os parasitos coram-se em azul palido.

Os parasitos contidos nos pseudocistos, em consequência da compressão recíproca que suportam, apresentam-se geralmente de talhe mais reduzido que as formas isoladas. Alem disso, embora muitos assumam uma forma ovoide, frequentemente eles se mostram fusiformes e falciformes, sendo este aspecto muito frequente nos aglomerados parasitários do coração (fig. 20). Aquí no miocárdio, alguns exemplares são relativamente longos (3.8 micra), seu diâmetro transversal entretanto, raramente passando de 1 *micron*.

Os pseudocistos foram observados, alem do sistema nervoso central, no coração e no fígado. Como já ficou dito, o seu tamanho é variavel. Medimos 30 exemplares em cortes de encéfalo, verificando variações indo de 4.5 x 4.0 micra até 30.0 x 26.6 micra, sendo a maior frequência à de diâmetros entre 10 a 20 micra. No encéfalo, quando o pseudocisto é de pequeno talhe, torna-se reconhecivel a célula continente. Na maior parte das vezes porem, os parasitos ocupam toda a célula, da qual raramente resta o núcleo deslocado para a periferia. O todo apresenta-se então corado em róseo, destacando-se no interior os núcleos dos parasitos. (Fig. 21 e Estampa II, fig. 1). Nos cortes delgados (4 micra) cada microorganismo mostra seu contorno bem delineado, porem nos cortes mais espessos a maior parte dos pseudocistos não permite ver os contornos dos parasitos neles contidos, oferecendo o conjunto um aspecto sincicial. Foram vistos 4 pseudocistos de diferentes tamanhos evoluindo na mesma célula, aparentemente, um neurônio (fig. 22).

Torna-se interessante destacar os aglomerados parasitários do miocárdio, os quais somente foram estudados nos cortes. Ao contrário daqueles observados no sistema nervoso central, os acúmulos parasitários das fibras car-

diacas mostravam-se fusiformes seguindo o eixo longitudinal das mesmas, alcançando, deste modo, tamanhos muito maiores. Com efeito, enquanto aqueles raramente atingiam a 30 micra, os aglomerados parasitários do coração mediam até 90 micra em seu maior diâmetro (fig. 23), sendo, consequentemente, muito maior o número de parasitos incluidos. Em 10 desses aglomerados parasitários em que medimos os respectivos diâmetros, estes variaram de 24 a 90 micra, o longitudinal, e de 7 a 22 micra, o transverso. Em fibras cortadas transversalmente, um pseudocisto media 25 micra de largura, dois, 27 micra e um 36 micra, estando neste ponto a fibra parasitada reduzida a

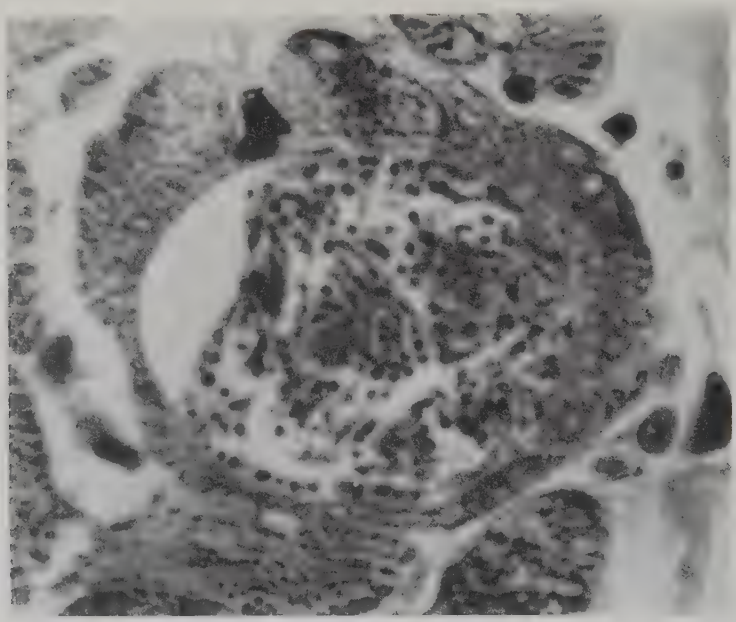


Fig. 20 — Corte transverso de uma fibra cardiaca parasitada, cujas miofibrilas são comprimidas pelos toxoplasmas. Muitos destes mostram-se fusiformes e falciformes. Caso-I.

uma cápsula com os feixes de miofibrilas, comprimidas de encontro ao miolema. As grandes dimensões das coleções de parasitos do coração, demonstram como o tamanho e a forma dos pseudocistos, decorrem da célula parasitada.

*Estudo comparativo das lesões e dos parasitos* — Professor Torres, gentilmente nos cedeu alguns dos seus preparados do caso que descreveu em 1927. Podemos assim, compará-los com os nossos, verificando que as lesões do sistema nervoso central e do miocárdio, assim como os parasitos, são extremamente semelhantes em ambos os casos. Apenas, no caso de Torres, os

parasitos eram menos abundantes naqueles orgãos, assim como as lesões do encéfalo eram menos graves.

Por outro lado, as lesões encontradas no sistema nervoso central, num e noutro caso, semelham muito às da toxoplasmose experimental, conforme já tinha sido assinalado por Torres para o seu caso. O que acontece, é que na toxoplasmose experimental, os processos necróticos são muito mais intensos. Isto não só nas áreas inflamatórias extensas, semelhantes às encontradas na doença humana, mas, tambem nas lesões de carater focal. Daí talvez, a estrutura apagada destas últimas lesões nos animais infectados experimentalmente, enquanto que na doença humana, as mesmas assumem uma estrutura

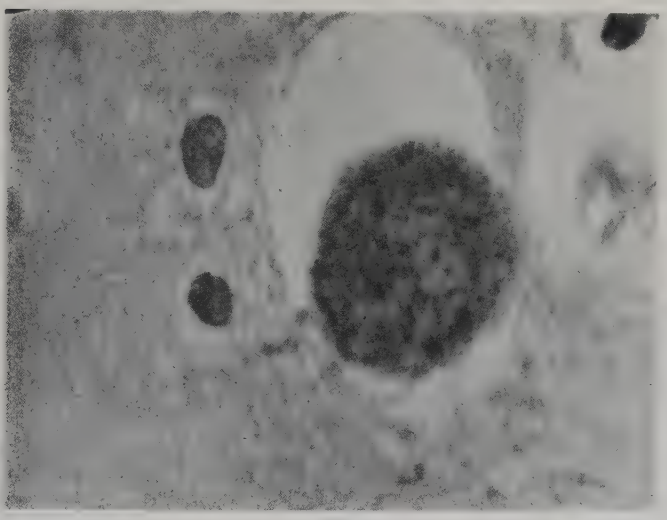


Fig. 21 — Corte de cérebro. Agrupamento de toxoplasmas (pseudocisto) no qual não se observa nenhum vestígio da célula continente. Caso-I. Microfoto de J. Pinto.

granulomatosa. Com efeito, no caso aquí relatado, as lesões focais sofrendo processos necróticos eram em número reduzido, de maneira que se poude bem apreciar sua estrutura granulomatosa, o que não acontece com os animais que infectamos experimentalmente. (*) Neles, o que se observa é uma encefalite em focos, nos quais a necrose mascara a estrutura primitiva, cujas células próprias ainda íntegras, são abafadas pelas células de invasão, pelos parasitos extravazados e pelos resíduos nucleares e plasmáticos das células degeneradas (Fig. 24).

Já na toxoplasmose espontânea dos animais, a estrutura de tais focos parece ser melhor apreciada. Assim é que, no pombo, por exemplo, Pires &

(*) Trabalhamos com *Toxoplasma* originário de pombo doméstico (amosta Dr. Reis) obtida em São Paulo por intermédio do Professor Carlos Chagas Jr.

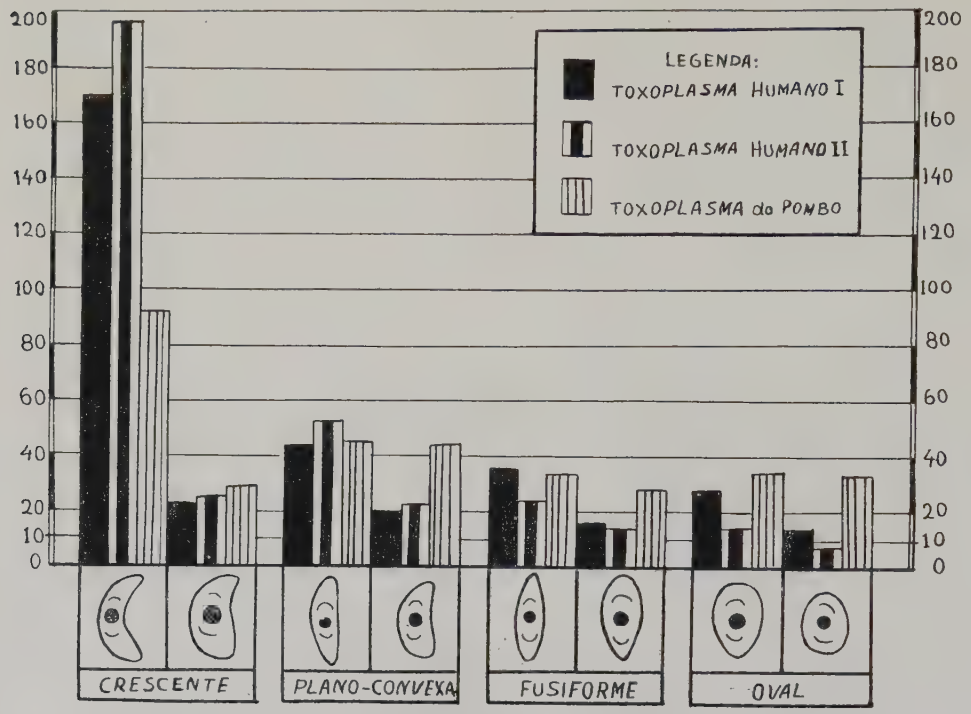



Grafico-I Incidência (sobre 350 exemplares) dos tipos morfológicos apresentados pelos toxoplasmas do caso-I, pelos isolados provavelmente do caso-II e por u'a amostra originaria de pombo.

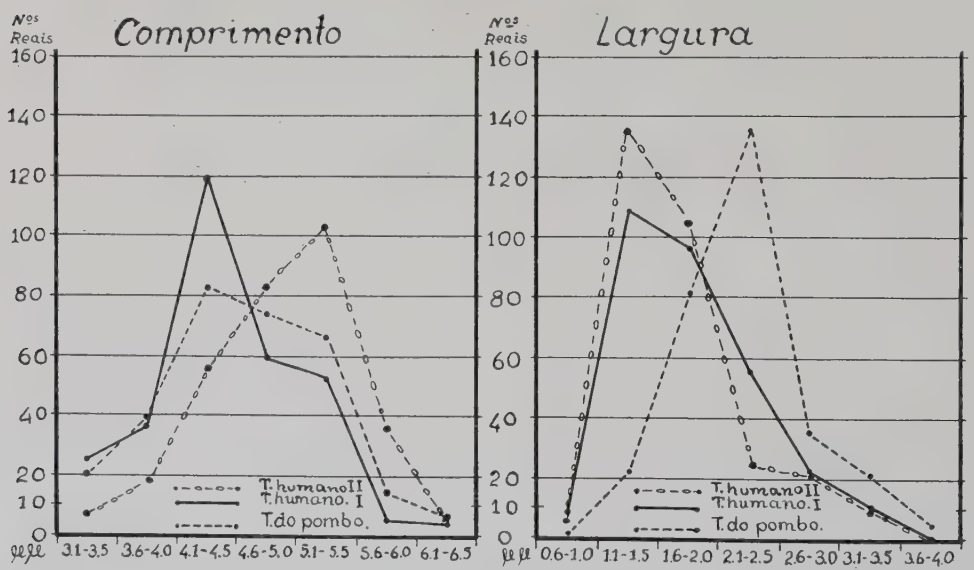



Grafico-II Medidas apresentadas pelos toxoplasmas do caso-I, pelos isolados provavelmente do caso-II e por u'a amostra originaria de pombo. (Sobre 300 exemplares de cada um.)

Santos (52), descrevem nódulos formados pelo agrupamento de células de origem neuróglica, e de caracter epitelioide, como se pode verificar pela figura que ilustra o trabalho referido.

A distribuição dos parasitos no encéfalo e no miocárdio é praticamente a mesma, na infecção humana e na toxoplasmose experimental. Do mesmo mdoo, a morfologia dos parasitos, num e noutro caso (Gráfico I). Os toxoplasmas do pombo, porem, sã de maiores dimensões (Gráfico II), além de que o número de parasitos colonizados intracelularmente no encéfalo, nunca atinge cifras tão altas como no caso humano. Por outro lado, na toxoplasmose ex-

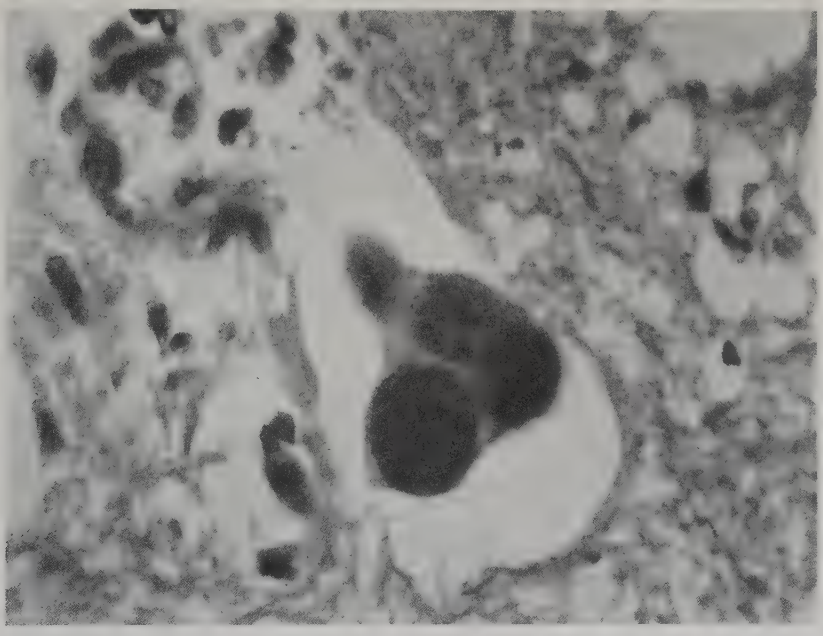


Fig. 22 — Cérebro. Pseudocistos parasitarios cuja localização celular é dificil precisar. Aparentemente parecia tratar-se de um neuronio. Caso-I.

perimental, nas lesões focais do encéfalo são numerosos os parasitos livres, enquanto que na infecção humana, os mesmos são relativamente raros.

Estas diferenças encontradas, nos parece poderem ser explicadas pela virulência exaltada dos toxoplasmas depois de muitas passagens em animais. Sabin & Olitsky (45) trabalhando com *Toxoplasma* proveniente de cobaio, após numerosas passagens seriadas observaram que os parasitos rompiam as células parasitadas, antes que o número deles fosse suficientemente grande para distendê-las completamente, e assim rompê-las mecânicamente. Fato se-

melhante foi observado com toxoplasma evoluindo em culturas de tecidos (22). Deste modo se explicaria o menor tamanho dos pseudocistos encontrados no encéfalo na toxoplasmose experimental.

Tais pseudocistos não atingem as dimensões dos maiores encontrados no caso I aquí descrito (30 micra), dimensões essas que podem, entretanto, ser até duplicadas em casos da doença espontânea em animais. Com efeito, Levaditi & Schoen (28) encontraram no cérebro de um macaco (*Cynocephalus babuin*) com toxoplasmose espontânea, pseudocistos medindo de 60 a 80 micra de diâmetro.

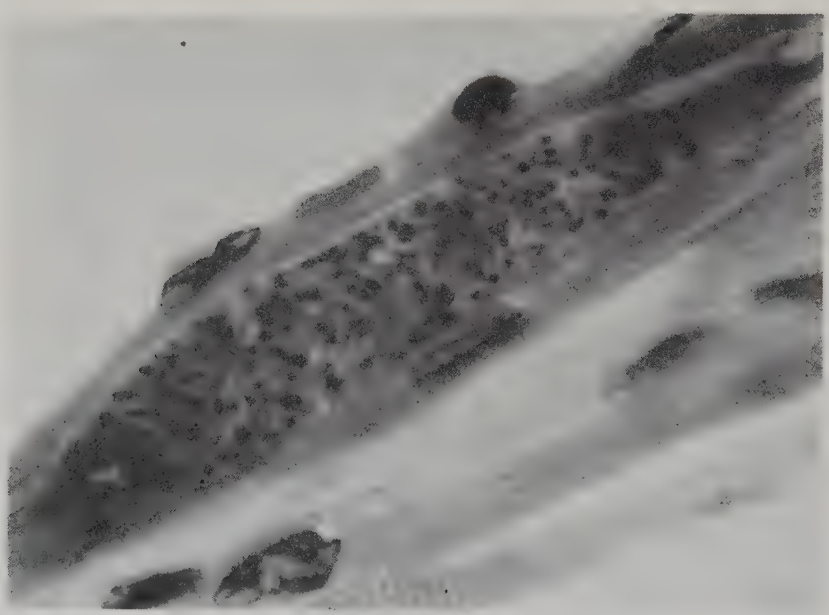


Fig. 23 — Coleção de parasitos em uma fibra muscular cardiaca. Parasitismo semelhante ao destas células pelos sarcosporídios e pelas leishmanias do Trypanosoma (S.) cruzi — caso-1.

Deste modo, concluimos pela inclusão dos parasitos aquí descritos no gênero — *Toxoplasma*.

## CASO II

M. A. T., nascida à termo com hidrocefalia em 12-12-40, no Hospital Getúlio Vargas de mãe primípara. Estava sendo observada desde 14-1-41 no Ambulatório de Neuro-psiquiatria do Instituto da Criança, pelo Dr. Joubert Barbosa. A paciente apresentou febre e diarréia, e, segundo as informações maternas sofreu convulsões algumas vezes. Durante todo o ano fez intensivo

tratamento anti-luético. Apesar disso, a cabeça crescia sempre. Em 6-11-41 o diâmetro cefálico era de 70 cm. Inumeras vezes foi feita punção ventricular. Liquor retirado em 16-1-41 foi enviado para exame dando o seguinte resultado: xantocrômico; albumina 0.20; cloretos 661 mmg. 0/00; linfocitos 70 %; granulocitos 24 %; endoteliais 6 %. Pandy, None, Weisch, Ross, positivas.

E 13-8-41 foi feita radiografia do crânio e dos membros inferiores. Estudos posteriores dessas radiografias, mostraram alem de *hidrocefalia,* destruição dos ossos das paredes do crâneo e pequenos focos de calcificação cerebral (Figura 25). Por outro lado, observou-se deficiência de ossificação das extremidades dos ossos longos (Fig. 26).

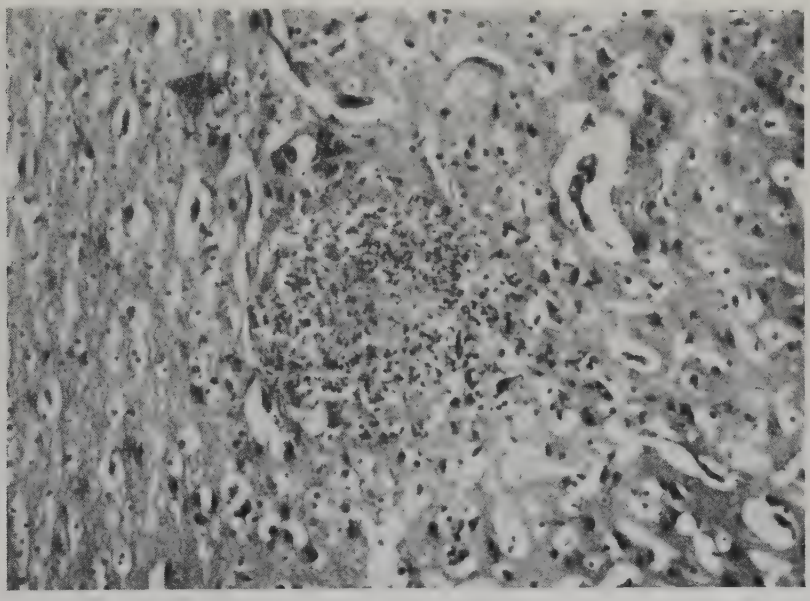


Fig. 24 — Cérebro de gato. Toxoplasmose experimental. Encefalite focal, apresentando necrose central, mascarando a estrutura primitiva.

Com as facilidades que nos foram dadas pelo Dr. Mario Olinto, vimos essa criança em 6-11-41, combinando seu internamento no Hospital Evandro Chagas, o que somente se verificou em 27-11. Pela suspeita de toxoplasmose nesse dia foi feita uma punção ventricular e inoculados dois cobaios e quatro camondongos. Quatro dias depois, o pai retirou a criança do hospital. Durante os poucos dias em que esteve hospitalizada, observou-se febre (38.° a 38.°6), agitação, choro contínuo, tremores dos glóbulos oculares e tremores do braço direito.

Fig. 25 — Radiografia do crâneo da obs. M.A.T. (Caso-II) aos 32 dias de idade. As setas mostram pequeno foco de calcificação cerebral profunda, além do hidrocefalus. (Gentileza do dr. Joubert Barbosa.)

O pai da criança só reapareceu no Instituto da Criança em 3-2-42 pela manhã para avisar que a filha tinha morrido e pedir o atestado de óbito que foi dado pelo Dr. Joubert Barbosa. Nesse mesmo dia tentamos proceder à exumação, não tendo para isso conseguido a devida licença.

Em ambos os genitores foi feita reação de Wasserman com resultado negativo.

Os pais desta criança residem em Parada de Lucas, pequena localidade situada próximo a Caxias (E. do Rio). Suas condições de vida, no tocante a alimentação e habitação, são praticamente as mesmas descritas para a família do obs. J. M. do caso I. Além de animais domésticos (cães e gatos) possuiram pequenas aves.

Dos animais inoculados com *liquor* da paciente, um cobaio (n. 168 T) adoeceu e morreu 40 dias depois, tendo sido isolado *Toxoplasma* do mesmo. O outro cobaio, como nada apresentasse, foi sacrificado em seguida, e dele tambem foram isolados toxoplasmas. Os camondongos, continuavam aparentemente normais e tambem foram sacrificados, inoculando-se material de cada um deles em um cobaio. Destes quatro cobaios, foram isolados toxoplasmas de três.

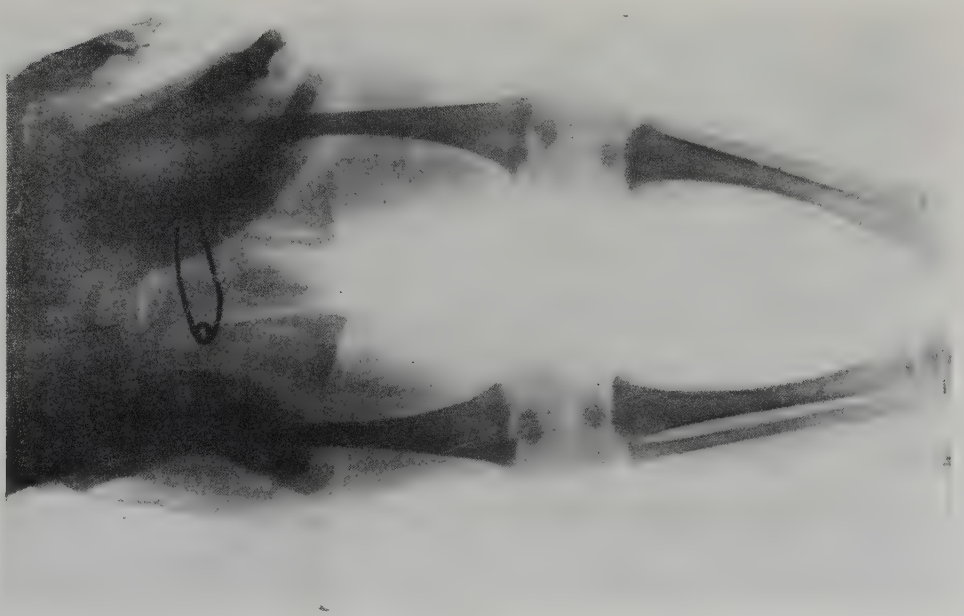


Fig. 26 — Radiografia dos membros inferiores da obs. M.A.T. (Caso-II) mostrando calcificação insuficiente das extremidades ósseas. (Publicada por gentileza do dr. Joubert Barbosa.)

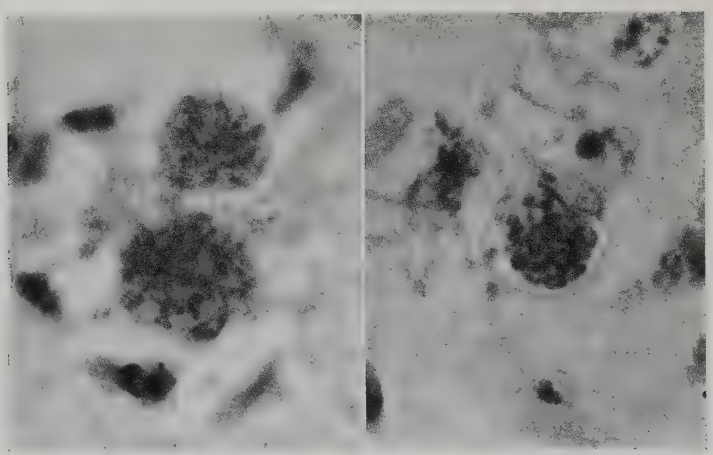
A amostra isolada mostrou-se patogênica para cães, cobaios, coelhos, camondongos e pombos, isto é, todas as espécies experimentadas.

Nos graficos I e II são comparados sua forma e tamanho com os parasitos do caso I e com os toxoplasmas do pombo. Observa-se que é mais proxima dos parasitos de procedência humana.

Um pombo que resistira à amostra de pombo acima citada — primeiro à tentativa de infeção pela via digestiva íntegra (gotejamento na garganta) e

em seguida à varias injeções nos musculos peitorais — tambem nada apresentou após a inoculação dos toxoplasmas isolados da criança.

Nos cortes do cérebro do cobaio n. 168 T, os agrupamentos de toxoplasmas são extremamente semelhantes aos vistos no encéfalo do obs. J. M. do caso I (Fig. 27). Centenas de parasitos agrupam-se em estreita contiguidade, de modo a não se poder delinear seus contornos. Acontece, porem, que nas subinoculações, os parasitos agrupados nos pseudocistos já não se mostram tão comprimidos, alem de que os agrupamentos já não atingem os maiores diâmetros anteriormente observados (Fig. 28). Por outro lado, são numerosos os parasitos extracelulares.

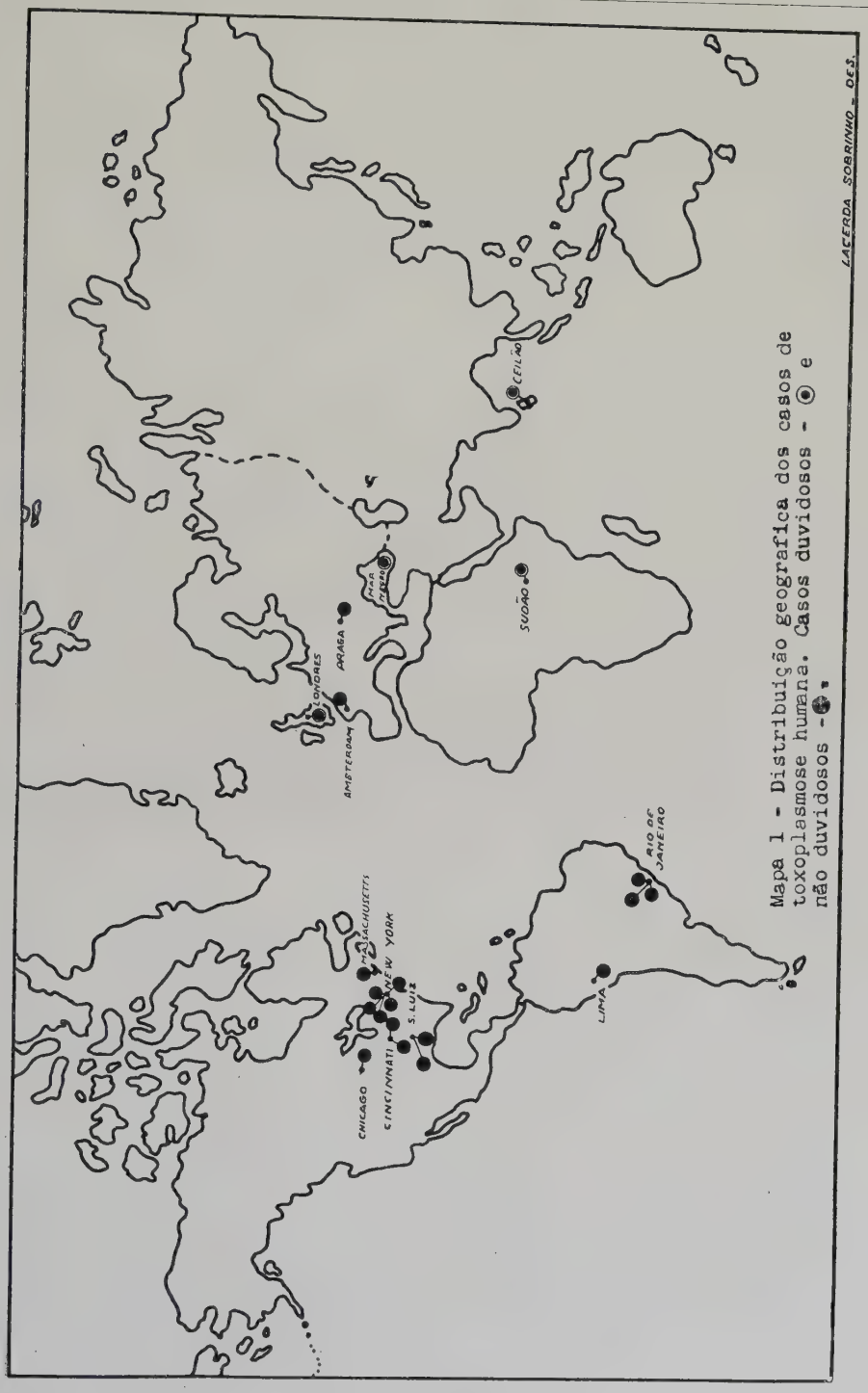


Figs. 27 e 28 — Na figura 27 vemos "pseudocistos" de toxoplasmas no cérebro de um cobaio inoculado com liquor da obs. M.A.T. (caso-II). São semelhantes aos encontrados no encefalo do obs. J.M. (caso-I). Na figura 28, aparece um "pseudocisto" no cérebro de um camondongo inoculado com a mesma amostra, depois de várias passagens. Ambas as figuras têm o mesmo aumento (1.290 XX). Microfotos de J. Pinto.

## DISCUSSÃO

As observações relatadas neste trabalho representam casos de toxoplasmose humana, uma nova entidade mórbida. Dos 17 casos descritos com diagnóstico de laboratório, 11 se referem a rencenascidos, dois a crianças de seis e oito anos respectivamente e quatro a adultos. O quadro I mostra comparativamente diversos dados sobre cada um desses casos e o mapa I sua distribuição geográfica.

Em todos aqueles examinados microscopicamente ao lado das lesões, foram encontrados parasitos em condições tais, que permitiram concluir serem os mesmos os responsaveis pelos processos patológicos descritos. Esses para-




Mapa 1 - Distribuição geográfica dos casos de toxoplasmose humana. Casos duvidosos - ◉ e não duvidosos - ●.

sitos, à princípio não classificados ou classificados diferentemente, foram finalmente identificados a *Toxoplasma*.

A moléstia, de um modo geral, apresentou-se sob dois aspectos: *a*) como uma doença congênita predominante do sistema nervoso central, caracterizada principalmente por uma meningoencefalomielite granulomatosa, associada frequentemente a coriorretinite e miocardite, e de maior incidência infantil; *b*) e como uma doença aguda febril e exantemática, com pneumonia atípica, semelhando as "febres maculosas", a qual foi observada exclusivamente em dois adultos.

As observações referidas neste trabalho pertencem à primeira forma, a qual inclue 15 casos. Destes, em quase todos nos quais foi examinado microscopicamente o sistema nervoso central, as lesões eram aí intensas e nelas os parasitos relativamente abundantes. Portanto, tais lesões juntamente com as do miocárdio, figuram com as mais características dessa forma da moléstia. Por outro lado, embora em um caso da forma exantemática da doença, fosse assinalada tambem uma meningoencefalite focal, ao lado de toxoplasmas, a lesão mais característica dessa forma é uma pneumonia intersticial.

De um modo geral, quer numa quer noutra forma da moléstia, a presença de parasitos e lesões nos demais orgãos é inconstante. As do fígado por exemplo, devem ser raras, pois, a não ser assim, o Serviço de Febre Amarela já teria assinalado casos da doença, assim como aconteceu com a leishmaniose visceral da América (*).

Como já foi assinalado por Torres, as lesões encontradas na doença, em consideração oferecem certa analogia com as da tripanosomíase americana, a qual tambem apresenta u'a meningoencefalomielite granulomatosa, com localização das leishmanias tanto em elementos da neuroglia, como nos neurônios. Tambem nas lesões encontradas no coração, as semelhanças são notaveis. Como ficou visto, os parasitos se comportam nas fibras miocárdicas da mesmas maneira que as leishmanias do *Trypanosoma* (*S.*) cruzi, formando tambem como estas, grandes coleções fusiformes, seguindo o eixo longitudinal das fibras. Por outro lado, as lesões cardiacas dão quadros semelhantes àqueles encontrados na doença de Chagas. Pode-se dizer mesmo que, às vezes, aspectos microscópicos das duas miocardites se superpõem, tanto que, com pequeno aumento, é praticamente impossivel separá-las. Na América do Sul, onde está comprovada a larga distribuição da doença de Chagas e onde

(*) Por intermédio do Professor Carlos Chagas Filho, recebemos da Fundação Rockfeller, cortes de fígado contendo organismos com estrutura de *Toxoplasma*, os quais vieram com a indicação: "não humano".

O Serviço de Febre Amarela poderia fornecer valiosos dados para o estudo da distribuição tanto da doença de Chagas como da toxoplasmose humana, se instituisse a viscerotomia cardíaca ao lado da hepática, mesmo que a colheita de amostras de coração não tivesse o carater de obrigatoriedade que a de amostras de fígado. Deixamos aqui esta sugestão, como apelo à boa vontade da direção desse Serviço.

parece não ser extremamente rara a toxoplasmose humana, é preciso então ficar-se de sobreaviso, para que se não confundam as duas moléstias. Aliás, é facil separá-las com a objetiva de imersão, que revela o blefaroplasto das formas histotrópicas do *T.* (*S.*) *cruzi*, o qual é ausente nos toxoplasmas.

Outra doença com a qual poderia ser tambem confundida a toxoplasmose humana, principalmente pela localização concomitante de seus parasitos nos músculos esqueléticos e no coração, é a sarcosporidiose. Isto, aliás, já aconteceu (caso de Hertig). Mas, em *Sarcocystis*, a coleção de esporos é envolvida por uma membrana de vários micra de espessura, e estriada transversalmente. Desta membrana partem, por sua vez, delgados septos internos, os quais separam os esporos em lojas. Essa membrana é, às vezes, altamente diferenciada e nucleada, conforme descreve Barreto (4) em *S. darlingi*. Nos aglomerados de toxoplasmas não há septos, nem membrana nítida. Por outro lado, na sarcosporidiose as lesões são mínimas, ou praticamente não existem, enquanto que na toxoplasmose, elas são sempre presentes, e na maior parte das vezes muito graves.

Semelhança notavel com *Toxoplasma*, apresentam os parasitos do gênero *Encephalitozoon*, cuja espécie tipo — *E. cuniculi* agente etiológico da encefalite epizoótica dos coelhos, é capaz de infectar camondongos, ratos e cães. Tais parasitos foram assim chamados por Levaditi & Coll. (26), embora anteriormente, já tivessem sido estudados por Wright & Craighead (65).

Analisando a descrição de diversos autores que trabalharam com *Encephalitozoon* [Da Fano (17,18), Cameron & Maitland (6), Wright & Craighead (65), Levaditi & Col. (26) ], e o estudo comparativo deste gênero com *Toxoplasma* feitos por Nicolau & Balmus (33) e por Pinkerton & Weinman (40), pode-se estabelecer a seguinte distinção entre os dois parasitos:

QUADRO II

| ENCEPHALITOZOON | TOXOPLASMA |
|---|---|
| *Tamanho* — De 1 a 3 micra; no máximo 4 micra de comprimento (cortes) | De 1.5 a 3.8 micra; até 4.5 micra de comprimento (cortes). |
| *Forma* — Geralmente oval ou elíptico. | Mais variado em forma: crescente, plano convexo, fusiforme, oval, etc. |
| *Membrana* — Com membrana nítida. | Sem membrana nítida. |
| *Corpo paranuclear* — Ausente. | Presente algumas vezes. |
| *Plasma* — Com áreas claras; às vezes todo vasio, cercado pela membrana. | Plasma sempre corado e geralmente sem vacuolos. |
| Não se cora facilmente pelos corantes comuns. Pelo método de Mann., cora-se em vermelho vivo. | Cora-se facilmente pelos corantes comuns. Pelo método de Mann., cora-se em azul pálido. |
| *Pseudocistos* — Com cápsula nítida. | Sem cápsula nítida. |
| Presença constante no rim e geralmente abundantes. | Presença inconstante no rim, e geralmente raros. |
| Não parasitam os neuronios. | Parasitam os neuronios. |

*Transmissão* — No caso de Torres (paciente de dois dias de vida) a congenicidade da infecção estava estabelecida. Paige, Cowen & Wolf, em dois casos demonstraram indiscutivelmente o início prenatal da moléstia. Nos outros casos descritos em crianças de baixa idade, a precocidade dos sintomas e a gravidade das lesões encontradas, sugerem a conclusão de que a infecção tambem se deu durante a vida intrauterina. Consequentemente, as mães dessas crianças estavam infectadas. Mas, como nos casos em que as mesmas foram examinadas, elas tinham aspecto sadio, impôs-se a conclusão de que as mesmas tinham uma infecção inaparente. Esta, foi demonstrada por Paige, Cowen & Wolf em dois casos, verificando no soro das mães das crianças anticorpos neutralizantes para *Toxoplasma*. (*)

Infelizmente, as placentas não foram examinadas em condições favoraveis em nenhum dos casos referidos, pois, se a contaminação no utero dá-se depois de formada a placenta, esta deve apresentar lesões e parasitos. Este é o caso da infecção congênita pelo *Trypanosoma* (*S.*) *cruzi* (56), cujas formas de reprodução, são tambem parasitos intracelulares obrigatórios.

E' claro que a infecção humana proveio da dos animais inferiores, tanto mais que, como parece provado, o agente etiológico pertence a uma espécie única. O que ainda não se sabe, é a maneira como se dá essa transmissão para o homem, do mesmo modo como não se conhece o contágio natural da toxoplasmose entre os animais, embora, experimentalmente, ela possa ser transmitida pelas mais diferentes vias. Em alguns dos casos descritos, foi possivel estabelecer relações de contacto mais ou menos íntimo dos pacientes com animais suscetiveis à toxoplasmose espontânea. (**).

---

(*) Essa infecção latente no homem, encontra apoio em casos de toxoplasmose espontânea em animais que, muitas vezes, não apresentam nenhum sintoma. Entretanto, a inoculação de material dos mesmos em outros animais, causa-lhes a doença e a morte. O mesmo se observa na toxoplasmose experimental, quando um animal resiste à inoculação e reinoculações de material virulento.

(**) No caso de Janku, a mãe da criança comera coelhos durante a gravidez e no nosso caso I, o próprio paciente usara esse animal como alimento;

No caso I de Wolf & Cowen, a casa da criança era infestada de ratos. Nessa mesma casa existia um canário;

No caso II de Pinkerton & Henderson, a paciente estivera em contacto frequente com um cão;

No caso I de Sabin um gatinho da casa do paciente apresentou ataques convulsivos aproximadamente na mesma época em que o menino adoeceu;

No caso II aquí descrito, existira na casa da criança uma "coleira" ou "papa-capim" (*Sporophilae albogularis, Spix*) [Neste pássaro e em outros do Brasil, Aragão encontrou hemogregarinas (1), porem Marullaz (30) acha que os parasitos em causa são toxoplasmas. Todavia, Aragão continua afirmando que os parasitos por ele descritos são de fato, hemogregarinas (2), e Wolfson conclue que três tipos de parasitos teem sido descritos em pássaros como *Toxoplasma*, e que é o tipo III o que corresponde a *Toxoplasma* dos mamiferos; segundo a autora citada os parasitos de Aragão pertencem ao tipo II (63).]

Dada a possibilidade da transmissão da toxoplasmose experimental pela via digestiva suspeitou-se que assim se poderia dar a infecção humana; ingestão de carne mal cosida de animais infectados [Sabin & Olitsky (45) viram camondongos se infectarem em seguida à canibalização de animais recentemente mortos da moléstia.] Ou ingestão de alimentos contaminados pelo "excreta" de roedores infectados. [Nicolau & Balmus (33) pensam ser esse o processo natural de contágio entre roedores.] Outras possibilidade de infecção é o tratamento de animais domésticos.

Possiveis insetos vetores teem sido invocados para a transmissão da toxoplasmose, mas sem haver ainda nenhuma prova concludente. Certas observações, entretanto, permitem suspeitar que eles estão de fato em causa. Embora na toxoplasmose experimental, os parasitos sejam assinalados raramente no sangue, podemos verificar experimentalmente em camondongos e pombos que, nos primeiros à partir do 3.º dia e nos segundos, à partir do 8.º, pode-se encontrar toxoplasmas no sangue, evidenciaveis pelo exame direto e melhormente por inoculações. Este fato, e, sobretudo, o encontro do parasito em hematias de aves (3, 7, 64) — o que podemos comprovar em pombos — aumenta a suspeita de um inseto transmissor.

Em dois dos casos descritos da doença (Torres e Pinkerton & Weinman) os parasitos eram abundantes no hipoderma. Experimentalmente, poudemos verificar em cães e gatos a presença de toxoplasmas em histiocitos localizados na região sub-epidérmica do derma, à maneira das leishmanias em cães infectados com as leishmanioses viscerais, em situação tal, que qualquer hematófago poderia infectar-se.

Nada obstante outros hematófagos poderem ser incriminados, várias observações permitem orientar as suspeitas para os carrapatos. Assim é que, o estudo da toxoplasmose do gondi no Inst. Pasteur de Tunis por Chatton & Blanc (12, 13) deixa quase concluir que, posteriormente, a infecção desses roedores era contraida no laboratório. A transmissão, segundo os autores citados, seria feita por intermédio de um inseto não alado, tendo como fonte de *virus* um cão que pouco depois foi encontrado com toxoplasmose espontânea. Chatton & Blanc chegaram à conclusão de que o transmissor era provavelmente o *Rhipicephalus sanguineus*.

Nos dois casos de toxoplamose humana descritos por Pinkerton & Henderson os pacientes tinham sido sugados por carrapatos, e no caso I aquí relatado, o paciente, assim como seus companheiros de trabalho, era tambem agredido por Ixódidas.

Nossas primeiras experiências de transmissão com *R. sanguineus* e *Ornithodorus* sp. foram negativas. Aliás, dada a especificidade de tais Ixódidas, achamos pouco provavel que funcionem como transmissores da mo-

léstia humana, o que deve ser atribuido mais consentaneamente aos *Amblyomma*. Carrapatos deste gênero e de outros serão experimentados em seguida. (*).

Pinkerton & Herderson chamam a atenção para a semelhança dos focos de encefalite encontrados em um dos dois casos da "forma exantemática" da moléstia, com os observados nas "febres maculosas", o que ainda mais aproxima as duas doenças, alem da semelhança clínica. Queremos chamar a atenção para o fato de que tambem a epidemiologia das duas moléstias parece oferecer muitos pontos de contacto. Ambos os pacientes que apresentaram a "forma exantemática" da toxoplasmose, tinham estado em zonas rurais e, no caso I aquí descrito, quando a doença se manifestou o paciente residia em zona silvestre. Nessa mesma zona, cerca de 20 km da residência do observado, desencadeou-se uma epidemia de "febre maculosa". (**).

*Diagnóstico* — E' evidente que a toxoplasmose humana não deve ser extremamente rara. Como aconteceu com outras moléstias (doença de Chagas, por exemplo), desde que para a mesma seja despertado o interesse dos investigadores, a pesquisa bem orientada determinará o encontro de ínumeros outros casos. Aos clínicos, obstetras e pediatras sobretudo, interessa o conhecimento detalhado dos meios de diagnóstico da doença, pois, irão eles ter oportunidade de entrar em contacto com novos casos. A sintomatologia dos casos já descritos, resumida no quadro 1, poderá orientar a supeita de toxoplasmose humana, destacando-se sobretudo, o encontro de focos de calcificação cerebral em recemnascidos.

Em caso de aborto espontâneo, com ou sem mal formação do feto, e em que foi afastada a lues, seria interessante examinar a placenta (diretamente e por inoculação em animais). No caso de crianças nascidas prematuramente ou a termo, as quais apresentem sitomas de comprometimento do sistema nervoso central ou do coração, ou que sejam portadoras de mal formações congênitas (hidrocefalia, microftalmia), deve-se fazer punção raquidiana. Em cinco casos

(*) Um forte argumento contrário à interferência de um insecto na transmissão da moléstia, é o fato de não ter sido ainda encontrado um foco com vários casos, quando (como no nosso caso I) inúmeros indivíduos estavam expostos às mesmas condições que aqueles raros encontrados com a doença. Mas, por outro lado, o encontro de maior número de infecções congênitas, em relação aos casos em adultos, faz pensar em maior incidência da moléstia. E, como as mães das crianças infectadas apresentavam uma infecção inaparente, é provavel que a moléstia assuma frequentemente esse aspecto, donde o pequeno número de observações realizadas. Animais de laboratório inoculados subcutaneamente, desenvolvem com relativa frequência uma toxoplasmose inaparente.

(**) A epidemiologia desse foco foi estudada por Tostes & Bretz (55), os quais viram cobaios inoculados com carrapatos trazidos da região aparecerem com toxoplasmose (comunicação verbal do Dr. Tostes). De passagem, chamamos a atenção para a frequência com que os pesquizadores que trabalham com as febres maculosas encontram toxoplasmose em seus animais de experiência.

da moléstia em recemnascidos, o *liquor* era xantocrômico, rico em células e com alto teor proteico. Nos casos suspeitos, *liquor* e sangue devem ser inoculados em animais de laboratório (de preferência jovens) empregando as vias cerebral e peritoneal. (*)

E' natural que o encontro de cada novo caso da moléstia, principalmente em recemnascido desperte imediatamente a atenção para a sua família. Mesmo que seus pais sejam sadios, subsiste a hipótese dos mesmos apresentarem uma forma inaparente da doença, particularmente a mãe. Por meio de inoculações, deve-se tentar demonstrar essa provavel infecção. Sabin & Olitsky (45) estudando a ação protetora do soro de *rhesus* imunes, contra a inoculação de amostras virulentas de *Toxoplasma*, descobriram um "test" de proteção cutânea em coelho. Posto que as infecções inaparentes representam ataques frustos, determinando uma maior ou menor imunidade, este "test" poude ser empregado para o diagnóstico de toxoplasmose humana, sob a forma latente. Com efeito, Wolf, Cowen & Paige verificaram a presença de anticorpos neutralizantes para *Toxoplasma* no soro das mães de dois recemnascidos encontrados com a doença.

Em adultos suspeitos (indivíduos com doença aguda, febril, com sinais de meningoencefalite, e de etiologia obscura, ou com quadro clínico de pneumonia atípica e semelhante às "febres maculosas") devem ser feitas as mesmas inoculações de *liquor* e sangue. Pinkerton & Henderson, pela primeira vez puderam transmitir a doença a cobaios por inoculação de sangue (39).

Wolfson (64) recentemente, infetou embriões de pato, inoculando sangue periférico de animais doentes. Como sugere a autora, sangue de indivíduos suspeitos pode ser inoculado em ovos destas aves, os quais oferecem a vantagem em relação aos animais de laboratório, de serem livres de infecção toxoplásmica espontânea.

*Agradecimentos* — Agradecemos ao Professor Carlos Chagas Jr. todas as facilidades que nos prestou para a execução deste trabalho, o qual foi quase totalmente realizado quando o referido professor se encontrava na direção do Serviço de Estudos das Grandes Endemias, agora Divisão de Estudos de Endemias do Instituto Oswaldo Cruz, Ao Professor Mario Olinto e ao Dr. Joubert Barbosa, pelas gentilezas que nos dispensaram no Instituto Nac. da Criança. Aos Srs. A. Leal, Miguel Cesar e J. Pinto pela confecção dos desenhos e microfotos que ilustram este trabalho. E, finalmente, ao nosso auxiliar de laboratório Sr. Waldemar Campos da Paz, pelo valioso auxilio prestado.

(*) Gatos jovens são ótimos animais para experiencia com *Toxoplasma* e essa especie parece não apresentar a doença espontanea.

## RESUMO

Desde 1914, com o trabalho inicial de Castellani, pesquisadores de diversos paises teem assinado o encontro de toxoplasmose humana, o que foi até recentemente objeto de controvérsias. Como resultado dos trabalhos de Torres, Levaditi & *col.*, Wolf, Cowen & Paige, Pinkerton & Henderson e Sabin, a questão do parasitismo do homem por *Toxoplasma,* deve ser encarada considerando-se que teem sido descritos casos duvidosos e casos não duvidosos:

*a*) Duvidosos, são os casos referidos por Castellani (Ceilão, 1914); Fedorovitch (Mar Negro, 1916); Chalmers & Kamar (Sudão, 1920); e Bland (Londres, 1930-31).

*b*) Não duvidosos são os relatados por Janku (Praga, 1923); Torres, (Rio de Janeiro, 1927); Wolf & Cowen (New-York, 1937); Richter (Chicago, 1936: diagnósticado por Wolf & Cowen em 1938); Wolf, Cowen & Paige (New-York, 1939); Hertig (Massachusetts, 1935: diagnósticado por Pinkerton & Weinman em 1940); Pinkerton & Weinman (Lima-Perú, 1940); Sabin (dois casos, Cincinnati, 1941); Pinkerton & Henderson (dois casos, St. Louis, 1941); Paige, Cowen & Wolf (três casos, New-York, 1942); e De Lange (Amsterdam, 1929: diagnósticado por Paige, Cowen & Wolf em 1942).

Destes relatos considerados como casos não duvidosos de toxoplasmose humana, 10 representam uma doença congênita (Torres e Paige, Wolf & Cowen) ocorrendo em crianças recemnascidas ou de poucos meses de vida. Como nas vezes em que foi possivel examinar as mães dessas crianças tratava-se de mulheres com aspecto sadio, concluiu-se que a moléstia, embora sumamente grave e mortal, pode apresentar uma forma inaparente. Em dois casos, provas de soro proteção demonstraram essa infecção materna inaparente, pelo encontro de anticorpos neutralizantes para *Toxoplasma* (Paige, Cowen & Wolf). Nada obstante não ter sido feito um estudo microscópico detalhado em todos os casos, a doença caracteriza-se por uma meningoencefalomielite granulomatosa (Wolf & Cowen), associada frequentemente à miocardite e corioretinite. Os sintomas apresentados pelos pacientes, foram: febre, convulsões, distúrbios respiratórios, hidrocefalia, cianose, vômitos, labidade de temperatura, etc., sendo sinal diagnóstico de máxima importância, o encontro de focos de calcificação cerebral profunda e corioretinite em recemnascido (Dyke, Wolf, Cowen, Paige & Caffey).

Em dois casos de toxoplasmose verificados em pacientes de seis e oito anos respectivamente, foi encontrada uma encefalite clinicamente atípica, sendo que um deles sarou (Sabin).

Os três casos restantes foram descritos em adultos; num deles as lesões não eram típicas (havia concomitância de infecção por *Bartonella bacilliformis*) e nos outros dois, a doença assumiu uma "forma exantemática", simulando as febres maculosas (Pinkerton & Henderson), sendo o achado mais importante microscopicamente, uma pneumonia intersticial.

Alem da semelhança clínica, tambem os focos de encefalite encontrados nessa "forma exantemática" da toxoplasmose, são semelhantes aos descritos nas "febres maculosas" (Pinkerton & Henderson). Povavelmente, a epidemiologia das duas moléstias oferece pontos de contacto. Próximo ao local onde adoeceu um paciente de toxoplasmose (caso I deste trabalho), foi observada pouco depois uma epidemia de febre maculosa.

A doença tem sido encontrada geralmente em cidades, representando achado de autópsia e, posteriormente, observações hospitalares. Porem, em alguns dos casos descritos foi assinalada a permanência mais ou menos longa do doentes ou de seus pais em zonas suburbanas ou rurais. Este fato parece ter grande importância para a epidemiologia da moléstia.

Como o parasito é encontrado em grande número de animais, alguns deles em contacto mais ou menos frequente com o homem, parece claro que eles constituem a fonte de virus para a infecção humana, uma vez que os toxoplasmas pertencem a uma única espécie (Sabin). Porem, não está ainda estabelecido como se transmite a moléstia ao homem, do mesmo modo como não se conhece a transmissão da toxoplasmose entre os animais. Alem do contágio direto pela via digestiva, é considerada a hipótese da interferência de insetos transmissores, havendo possibilidade dos mesmos serem Ixodidas (Chatton & Blanc, Pinkerton & Henderson) e, entre estes, os de menos especificidade. A favor da transmissão por um vetor, fala o encontro de toxoplasmas em hematias de aves (Carini, Arantes, Wolfson) e, melhor ainda em histiocitos da região subepidérmica do derma em animais infectados experimentalmente.

A moléstia foi transmitida para animais de laboratório pela primeira vez por Wolf, Cowen & Paige, que identificaram o agente etiológico a *Toxoplasma*. Deste modo, estabelecida a suspeita clínica, o diagnóstico deve ser confirmado pela inoculação de líquor ou sangue do paciente em animais de experiência.

No presente trabalho são descritos um caso da doença constatado em adulto e outro encontrado em recemnascido.

*Caso I* — J. M., 18 anos, preto, lavrador e residente em zona rural. Sua moléstia durou 37 dias e caracterizou-se por febre alta, cefaléia, paresias dos membros inferiores, dissociação esfigmotérmica, rigidez da nuca, disfasia,

dispnéia, monocitose. Na autópsia, encontrou-se: encefalite, pericardite, hipertrofia do V. E., hepatite, esplenite, nefrite e bronco-pneumonia do P. D.

Microscopicamente, foi encontrada uma meningoencefalomielite, caracterizada por extensas áreas inflamatórias com ou sem necrose, disseminadas tanto na substância branca como na cinzenta. Esparsos no tecido nervoso, aparecem granulomas miliares e sub-miliares, os quais geralmente se encontram ordenados em relação aos vasos sanguíneos. Assinalou-se tambem uma miocardite em certos aspectos semelhante àquela encontrada na doença de Chagas. As lesões se dispõem em focos inflamatórios espalhados no parênquima, com ou sem necrose central. Fócos inflamatórios necróticos foram encontrados no fígado e na hipófise, sendo que nesta última havia largas zonas de necrose. No pulmão, era notavel o entumescimento do epitélio alveolar com abundância de células do tipo de "carvão" no interior dos alvéolos.

Os parasitos nas impressões de encéfalo, mostraram-se, ora livres; ora isolados ou em pequeno número incluido no plasma de polinucleares e macrófagos; ora ainda organizados em "pseudocistos". Eles se apresentam geralmente como corpúsculos falciformes ("em crescente"), observando-se tambem elementos fusiformes e ovais. Em média, medem de 4 a 4,5 micra de comprimento por 1 a 1,5 micron de largura. O plasma se cora em azul pelo Giemsa, e o núcleo, único, em violeta. Formas binúcleadas, representam parasitos em multiplicação, a qual parece processar-se por divisão binária longitudinal. Os agrupamentos de parasitos formando "pseudocistos", medem de 6,5 até 54 micra de diâmetro. Às vezes, oferecem um aspecto sincicial, dando impressão de esquizogonia. O número de parasitos neles contidos é variavel, contando-se desde poucos exemplares até muitas centenas deles. Nos cortes os parasitos se mostraram geralmente intracelulares e de plasma acidófilo. Exemplares isolados medem até 3,3 micra em seu maior diâmetro. Nos "pseudocistos", os parasitos mostram-se ovóides, falciformes e fusiformes e são menores (1,7 a 2,6 micra). No encéfalo, os "pseudocistos" atingem no máximo a 30 micra, e são todos redondos ou ovais; no miocárdio eles se apresentam geralmente fusiformes, alcançando até 90 micra em seu maior diâmetro, dando aspecto semelhante ao do parasitismo destas células pelos sarcosporídios e pelos corpúsculos leishmaniformes do *T. cruzi*.

As preparações foram comparadas com as do caso descrito por Torres em 1927, verificando-se extrema semelhança entre os dois casos. O material foi comparado tambem com toxoplasma do pombo, o qual é maior e não se agrupa em números muito elevados nos "pseudocistos". Foram dadas razões que apôiam a hipótese de que essas diferenças decorrem da maior virulência da amostra do pombo, decorrente de numerosas passagens.

*Caso II* — M. A. T., 14 meses, parda, pais residentes em zona suburbana. Nascida com hidrocefalia, apresentara febre, diarréia, agitação, tremores do braço direito, convulsões e tremores dos glôbos oculares. Aos raios X, foram verificados pequenos focos de calcificação cerebral e ossificação deficiente nas extremidades dos ossos longos. O liquor era xantocrômico, rico em albumina e células. Nada obstante ter sido tratada para lues, desde um mês de idade, o crâneo aumentara progressivamente. Pela suspeita de toxoplasmose, foram inoculados com líquor da paciente cobáios e camondongos e foram isolados toxoplasmas de mais de metade dos animais inoculados. A criança faleceu fora do hospital e não foi feita a autópsia. Isto nada obstante, os sintomas e sinais apresentado pela paciente (os quais semelhavam aos descritos em outros casos da moléstia em criança) e o isolamento de *Toxoplasma* de animais inoculados com material da mesma (animais estes pertencentes a um lote no qual não foi encontrada toxoplasmose espontânea), permitiram estabelecer o diagnóstico provavel de toxoplasmose para a criança. A amostra isolada mostrou-se patogênica para cães, cobaios, coelhos, camondongos e pombos; apresentou medidas aproximadas das dos parasitos do caso I; e não infectou um pombo imune para toxoplasma de pombo.

## SUMMARY

Since Castellani's initial work in 1914, investigators of various countries have pointed out the occurrence of human toxoplasmosis, a fact which, still not long ago, was a matter of controversy. As resulting from the works of Torres, Levanditi & coworkers, Wolf, Cowen & Paige, Pinkerton & Henderson and Sabin, the problem of parasitism in man by Toxoplasma has to be faced taking into consideration that there have been described doubtful and undoubtful cases.

*a*) Doubtful are the cases reported by Castellani (Ceylon, 1914); Fedorovitch (The Black Sea, 1916); Chalmers & Kamar (Sudan, 1920); and Bland (London, 1930-31).

*b*) Undoubtful are those reported by Janku (Praga, 1923); Torres (Rio de Janeiro, 1927); Wolf & Cowen (New York, 1937); Richter (Chicago, 1936: diagnosed by Wolf & Cowen in 1938); Wolf, Cowen & Paige (New York, 1939); Hertig (Massachusetts, 1935: diagnosed by Pinkerton & Weinman in 1940); Pinkerton & Weinman (Lima, Perú, 1940); Sabin (2 cases, Cincinnati, 1941); Pinkerton & Henderson (2 cases, Saint Louis, 1941); Paige, Cowen & Wolf (3 cases, New York, 1942); and De Lange (Amsterdam, 1929: diagnosed by Paige, Cowen & Wolf in 1942).

Of these reports considered as undoubtful cases of human toxoplasmosis, 10 represent congenital disease (Torres and Paige, Wolf & Cowen), having occurred in either new born or a-few-month-old children. As in the cases, in which it was possible to examine the mothers of those children, these women were of a healthy appearance, the conclusion was drawn that the disease, although extremely severe and fatal, can present an unapparent form. In 2 cases, serum protection tests proved such an unapparent infection of the mothers, in whom neutralizing antibodies against Toxoplasma were met with (Paige, Cowen & Wolf). Although no detailed microscopical study has been made in all cases, the disease is characterized by granulomatous meningoencephalomyelitis (Wolf & Cowen), often associated with myocarditis and chorioretinitis. The symptoms presented by the patients were: fever, convulsions, respiratory disturbances, hydrocephalus, cyanosis, vomiting, temperature lability, etc., the diagnostic sign of the greatest importance being the presence of foci of profound cerebral calcification and chorioretinitis in new born (Wolf, Cowen & Paige).

In 2 cases of toxoplasmosis verified in one 6 and the other 8 years old, patients, an encephalitis, clinically atypical, was met with, one of them having recovered his health (Sabin).

The remaining three cases were described in adults; in one of them the changes were not typical (these was a concomittant infection by *Bartonella bacilliformis*) and in the two others the disease assumed an "exanthematous form", simulating a macular fever (Pinkerton & Henderson), the most important microscopical evidence being an interstitial pneumonia.

Apart from the clinical similarity, also the encephalitis foci met with in this "exanthematous form" of toxoplasmosis resemble those described in "macular fevers" (Pinkerton & Henderson). The epidemiology of the two diseases is likely to offer points of contact. Near the place where a patient with toxoplasmosis was met with (Case I of the present paper), a little later on an epidemic of macular fever was observed.

Generally, the disease has been met with in towns, on post mortem examination, and subsequently hospital observations ensued. Yet, in some of the cases described, a more or less long stay of the patients or of their parents in suburban or rural zones was pointed out. This fact seems to be of great importance in the epidemiology of the disease.

As the parasite is met with in a large number of animals, some of them being in a more or less frequent contact with man, it seemingly stands to reason that they constitute the virus source for human infection, since toxoplasmas belong to one single species (Sabin). Nevertheless, how the disease is

transmitted to man is not yet established, nor is the transmission of toxoplasmas amongst animals known as yet. Apart from direct contagion by digestive way, the hypothesis of interference of transmitting insects is assumed; they may possibly be ticks (Chatton & Blanc, Pinkerton & Henderson) and amongst these, those of lesser specificity. As telling in favour of the transmission by a carrier is to be credited the occurrence of toxoplasmas in red blood cells of birds (Carini, Arantes, Wolfson) and, so much the better, in histiocytes of the e subepidermal region of the derm in animals infected experimentally.

The disease was first transmitted from the man to laboratory animals by Wolf, Cowen & Paige, who identified the etiological agent with the Toxoplasma. In such a way, clinical suspicion having arisen, the diagnosis has to be confirmed through inoculation of the patient's liquor or blood into experimental animals.

In the present paper, the description is given of a case verified in an adult individual and another in a new born.

Case I. —J. M., 18 years old negro, agriculture labourer, dwelling in a rural zone. His disease lasted 37 days, and was characterized by high fever, headache, paresis of the lower limbs, sphygmothermic dissociation, nuchal rigidity, dyspnea, dysphasia, monocytosis. On post mortem examination, the findings were: Encephalitis, pericarditis, hypertrophy of the left ventricle of the heart, hepatitis, splenitis, nephritis and bronchopneumonia of the right lung.

The microscopical examination revealed a meningoencephalomyelitis, characterized by extensive inflammatory areas with or without necrosis, spread over both the white and gray substances. Scattered on the nerve tissue there appear miliary and submiliary granulomata which generally are met with ranged in relation to blood vessels. There was also pointed out a myocarditis with certain appearances resembling that which is met with in Chagas's disease. The changes are ranged in inflammatory foci scattered in the parenchyma, with or without central necrosis. Necrotic inflammatory foci were met with in the liver and hypophysis, broad zones of necrosis being present in the latter. In the lung there was a noticeable intumescence of the alveolar epithelium with plentiful "coal"-type cells within the alveoli.

Parasites in encephalic impressions appear here free, there isolated or in small number included in the plasma of polynuclears and macrophagi, yonder organised in "pseudocysts". They generally appear as falciform corpuscles ("crescent-shaped"); fusiform and oval elements are also seen. On an average, they measure 4 to 4.5 micra in length by 1 to 1.5 micron in width. The plasma is stained blue by Giemsa, and the nucleus, a single one, violet. Binu-

cleate forms represent parasites during multiplication which seems to come about by longitudinal binary division. The parasite groupings forming "pseudocysts" measure 6.5 up to 54 micra in diameter. At times, they offer a syncytial aspect making the impression of schizogony. The number of parasites they contain varies, counting, from a few specimens to many hundreds of them. In section, the parasites generally appear intracellular and with acidophile plasma. Isolated specimens measure up to 3.3 micra in their larger diameter. In the "pseudocysts" the parasites appear ovoidal, falciform and fusiform, and are smaller (1.7 to 2.6 micra). In the encephalon, the "pseudocysts" at the most attain 30 micra and are all round or oval; in the myocardium they generally appear spindle-shaped attaining up to 90 micra in their larger diameter, presenting an appearance which resembles the parasitism of these cells by sarcosporidia and by leishmania-shaped corpuscles of *T. cruzi*.

The preparations were compared with those described by Torres in 1927, an utmost resemblance being verified between the two cases. The material was also compared with pigeon toxoplasma which is larger and does not arrange in high proportion in the "pseudocysts". Reasons were given to support the hypothesis that such differences might depend upon major virulence of the pigeon strain occasioned by numerous reinoculations.

Case II. — M. A. T., female, 14 months old, mulatto coloured, her parents dwelling in a suburban zone. Born with hydrocephalus, she presented fever, diarrhea, agitation, trembling of the right arm, convulsions and tremor of eyeballs. On x-rays examination, little foci of cerebral calcification and deficient ossification of the ends of the long bones were to be seen. The liquor was xanthonchromatic, rich in albumin and cells. Although under treatment of lues since her first month of life, her skull progressively grew larger. Toxoplasmosis having been suspected, cephalorachidian fluid from the patient was inoculated into guinea pigs and mice, and toxoplasmas were isolated from the animals which had been inoculated with material coming from the hospital and no post mortem examination was made. Notwithstanding, the symptoms and evidence presented by the patient, resembling those described in other cases of the disease in children, and the isolation of Toxoplasma from the animals which had been inoculated with material coming from the patient (animals that belong to a lot in which no spontaneous toxoplasmosis had been previously found out), allowed to establish the probable diagnosis of toxoplasmosis of infant.

The isolated strain appeared to be pathogenic for dogs, guinea pigs, rabbits, mice and pigeons. The measures of the parasite were approximately equal to those of Case I. Immune pigeon for Toxoplasma originated from pigeon, were not infected with the strain isolated from the infant.

BIBLIOGRAFIA

1 Aragão, H. B.

1911. Observações sôbre algumas hemogregarinas das aves. Memórias do Instituto Osvaldo Cruz, 3 : 54-64.

2 Aragão, H. B.

1933. Considerations sur les Hemogregarines des Oiseaux. C. R. Soc. Biol. CXIII : 214.

3 Arantes, J. B.

1914. Contribuição ao estudo do Toxoplasma. Tese apresentada à Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro. Trabalho do Instituto Osvaldo Cruz.

4 Barreto, M. P.

1940. Contribuição ao estudo dos *Sarcospiridia* Butschili, 1886. Com a descrição de uma nova espécie : *Sarcocystis jacarinae*, n. sp. Parasita do "Tiziu" (*Volatinia jacarina L.*) Arquivos de Zoologia do Estado de São Paulo. (Tomo XXIV da Rev. do Museu Paulista). Vol. 1 (9) : 339-368.

5 Bland, J. O. W.

1931. Glandular Fever II. The Protozoa Nature of the Experimental Disease. Brit. Jour. Exper. Path., 12 : 311.

6 Cameron, G. C. & Ma.tland, H. B.

1924. A description of parasites in spontaneous encephalytis of rabbits. Jl. Path. Bacteriol., 27 : 328-333.

7 Carini, A.

1911. Infection spontanée du pigeon et du chien due au *Toxoplasma cuniculi*. Bull. Soc. Path. Exot., 4 : 518-519.

8 Carini, A. & Maciel, J.

1916. Quelques hémoparasites du Brésil. Bull. Soc. Path. Exot., 9 : 247-264.

9 Carini, A. & Migliano, L.

1916. Sur un Toxoplasme du cobaye. (*Toxoplasma caviae*, n. sp.) Bull. Soc. Path. Exot. 9 : 435-436.

10 Castellani, A.

1914. Note on certain protozoa like bodies in a case of protracted fever with splenomegaly. Jl. Trop. Med., 17 : 113-114.

11 Chalmers, A. & Kamar, A.

1920. Toxoplasma pyrogenes, Castellani, 1913. Jl. Trop. Med., 23 : 45.

12 Chatton,, E. & Blanc, G.

1917. Notes et réflexions sur le toxoplasme et la toxoplasmose du gondi. Arch. Inst. Past. Tunis, 10 : 1-40.

13 Chatton, E. & Blanc, G.

1917-18 Predilection du Rhipicephalus sanguineus pour le Gondi. Son rôle probable de vecteur de la toxoplasmose. Arch. Inst. Pasteur de Tunis, 10 : 281.

14 Coutelen, F.

1932. Existence des toxoplasmoses chez les Lacertiliens. Un Toxoplasme nouveau chez un Iguane de la Trinité. C. R. Soc. Biol. 110 : 885-887.

15 Coutelen, F.

1932. Existence d'une encéphalite toxoplasmique spontanée chez les Wombats. Un toxoplasme nouveau, *Toxoplasma wenyoni*, n. sp. parasite de *Phascolymis Mitchelli* (Australie). C. R. Soc. Biol., 110 : 1.245-1.247.

16 Coutelen, F.

1932. Existence d'une toxoplasmose spontanée et generalisée chez le Furez. Un Toxoplasme nouveau, *Toxoplasma laidlawi* n. sp. parasite de *Mustela* (*Putorius*) *putorius* var. *furo*. C. R. Soc. Biol., 11 : 284.

17 Da Fano, C.

1924. Spontaneous and Experimental Encephalytis in Rabbits. Med. Science, 10 : 355.

18 Da Fano, C.

1924. Protozoan Like-Parasites in Spontaneous Encephalytis of Rabbits. Jl. Path. Bacter., 27 : 333.

19 De Lange, C.

1929. (Klinische und pathologisc-anatomische Mitteilungen über Hydrocephalus chronicus congenitus und acquisitus, Ztschr. f. d. ges. Neurol. u. Psychiat. 120 : 433-500.) *in* Paige, Cowen & Wolf, Am. Jl. Dis. Children, 63 (3) : 474-514.

20 Dyke, G. C., Wolf, A., Cowen, D., Paige, H. B. & Caffey, J.

1942. Toxoplasmic Encephalomylitis. VIII. Significance of Roentgenographic Findings in the Diagnosis of Infantile or Congenital Toxoplasmosis. Am. Jl. Roentg. Radium Therapy, 47 (6) : 825-829.

21 Fedorovitch, A. I.

1916. Hémoparasites trouvés dans un cas de fièvre chronique. Ann. Inst. Past., 30 : 249-250.

22 Guimarães, F. N. & Meyer, H.

1942. Cultivo de *Toxoplasma* Nicolle & Manceaux, 1909 em culturas de tecidos. Rev Brasileira de Biol., 2 (1) : 123-129.

23 Hertig, A. T.

1934. Sarcosporidia in the Myocardium of a Premature Infant. Report of a Case. Am. Jl. Path., 10 : 413.

24 Janků, J.

1923. Um resumo dos trabalhos deste autor (Casopis lekarew ceskyck, 62 : 1.021, 1.054, 1.081, 1.111 e 1.138), encontra-se *in* Wolf & Cowen, Bull. Neur. Inst. N. Y., 6 : 306-1.937.

25 Levaditi, C.

1928. Au sujet de certaines protozooses hereditaires humaines à localisations oculaires et nerveuses. C. R. Soc. Biol., 98 : 297-299.

26 Levaditi, C., Nicolau, S. & Schoen, R.

1924. L'étiologie de l'encephalite épizootique du lapin dans ses rapports avec l'étude expérimentale de l'encephalite lethargique, *Encephalitozoon cuniculi* n. sp. Ann. Inst. Pasteur, 38 : 651-712.

27 Levaditi, C., Sanchis-Bayarri, V., Lépine, P. & Schoen, R.

1929. L'étude sur l'encéphalomyélite provoquée par le *Toxoplasma cuniculi*. Ann. Inst. Pasteur, 43 : 673-736 e 1.063-1.080.

28 Levaditi, C. & Shoen, R.

1933. Présence d'un toxoplasme dans l'encéphale du *Cynocephalus babuin*. Bull. Soc. Path. Exot., 26 : 402-405.

29 Levaditi, C., Schoen, R. & Sanchis-Bayarri, V.

1928. L'infection toxoplasmique experimentale de l'oeil. C. R. Soc. Biol., 98 : 1.414.

30 Marullaz, M.

1913. Au sujet d'un Toxoplasme des oiseaux. Bull. Soc. Path. Exot. 6 : 323-326.

31 Mello, U.

1910. Un cas de toxoplasmose du chien observé a Turin. Bull. Soc. Path. Exot., 3 : 359-363.

32 Mesnil, F.

1918. [Ref. sur "Notes et reflexions sur le toxoplasme et la toxoplasmose du Gondi (*T. gundii*, Nicolle et Manceaux, 1909), Arch. Inst. Pasteur Tunis, I e II, 1917, pág. :1-40)]. Bull. Inst. Pasteur, 16 : 71.

33 Nicolau, S. & Balmus, G.

1933. Toxoplasma musculi. C. R. Soc. Biol., 113 : 1.002-1.005.

34 Nicolle, C. & Manceaux, L.

1908. Sur une infection à corps de Leishman (ou organisme voisins) du gondi. C. R. Acad. d. Sc., 147 : 763-766.

35 Nicolle, C. & Manceaux, L.

1909. Sur un protozoaire nouveau du Gondi. C. R. Acad. d. Sc., 148 : 369-372.

36 Nicolle, C. & Manceaux, L.

1909. Sur un protozoaire nouveau du Gondi, Arch. Inst. Pasteur Tunis 2 : 97-103.

37 Paige, H. B., Cowen, D. & Wolf, A.

1941. Fetal Encephalomyelitis : Prenatal Inception of Infantile Toxoplasmosis. Science, 93 : 548-549.

38 Paige, H. B., Cowen, D. & Wolf, A.

1942. Toxoplasmic Encephalomyelitis V-Further Observations of Infantile Toxoplasmosis. Intrauterine Inception of the Disease ; Visceral Manifestations. Am. Jl. Dis. Child., 63 (3) : 474-514.

39 Pinkerton, H. & Henderson, R. G.

1941. Adult Toxoplasmosis. A Previously Unrecognised Disease Entity Simulating Typhus-Spotted Fever Group. J. Am. Med. Ass., 116 (9) : 807-814.

40 Pinkerton, H. & Weinman, D.

1940. Toxoplasma Infection in Man., Arch. Path. 30 : 374.

41 Pires, W. & Santos, V.

1934. Lesões histo-patológicas observadas num caso de toxoplasmose natural do pombo. Separata da Rev. do P.N.P.A., Ano I, n. 1.

42 Richter, R.

1936. Meningoencephalomyelitis Neonatorum. Anatomic Report of a Case. Arch. Neur. & Psychiat., 36 : 1.085-1.100.

43 Sabin, A. B.

1939. Biological and Immunological Identity of Toxoplasma of Animal and Human Origin. Proc. Soc. Exper. Biol., Med., 41 n. 1 : 75-80.

44 Sabin, A. B.

1941. Toxoplasmic Encephalitis in Children. Jl. Am. Med. Ass. 116 (9) 801-807.

45 Sabin, A. B. & Olitsky, P. K.

1937. Toxoplasma and Obligate Intracellular Parasitism. Science, 85 : 336-338.

46 Sangiorgi, G.

1913. Uun nuovo protozoa parassita del "Mus musculus" (*Toxoplasma musculi*). Pathologica, 5 : 323-325.

47 Sangiorgi, G.

1914. *Toxoplasma ratti*, n. sp. Gior. d. r. Accad. med. di Torino S. 4, 20 : 383-385.

48 Sante, L. R.

1942. Roentgen Manifestations of Adult Toxoplasmosis. Am. Jl. Roentg. and Radium Therapy, 47 (6) : 825-829.

49 Splendore, A.

1908. Un nuovo protozoa parassita del conigli. Rev. Soc. Sc. S. Paulo, 3 : 109.

50 Splendore, A.

1909. Sur un nouveau protozoaire parasite du lapin (2.ª nota). Bull. Soc. Path. Exot., 2 : 462-465.

51 Torres, C. M.

1927. Sur une nouvelle maladie de l'homme, caractérisée par la presence d'un parasite intracellulaire, trés proche du Toxoplasme et de l'Encephalitozoon, dans le tissu musculaire cardiaque, les muscles du squelette, le tissu cellulaire sous-cutané et le tissu nerveux. C. R. Soc. Biol., 97 : 1.778.

52 Torres, C. M.

1927. Morphologie d'un nouveau parasite de l'homme. *Encephalitozoon chagasi*, n. sp. Observé dans un cas de méningo-encéphalomyélite congenitale avec myosite et myocardite. C. R. Soc. Biol., 97 : 1.787.

53 Torres, C. M.

1927. Affinités de l'Encephalitozoon chagasi, agent étiologique d'une méningo-encéphalo-myelite congénitale avec myosite et myocardite chez l'homme. C. R. Soc. Biol., 97 : 1.797.

54 Torres, C. M.

1928. Sobre uma nova entidade mórbida do homem, caracterizada por meningo-encephalo-myelite, myosite e myocardite aguda difusa congênitas, associadas, à presença, nos respectivos tecidos, de um novo parasito, Encephalitozoon chagasi. Brasil-Médico. Ano XLII, n. 1.

55 Tostes, I. & Bretz, G.

1941. Sobre uma rickettsiose observada em zona rural do Estado do Rio de Janeiro. Brasil-Médico, 55 : 789-794.

56 Vilela, E.

1923. A transmissão intrauterina da moléstia de Chagas. Encefalite congênita pelo *T. cruzi*. Folha Médica, 4 (6) : 41.

57 Wenyon, C. M.

1923. "Haemogregarines" in Man with notes on Some Other Supposed Parasites. Trop. Dis. Bull., 20 : 527-550.

58 Wenyon, C. M.

1926. Protozoology. Baillière, Tindall and Cox. London, vol. 2, pág. 1.048.

59 Wolf, A. & Cowen, D.

1937. Granulomatous Encephalomyelitis due to an Encephalitozoon (Encephalitozoic Encephalomyelitis). A New Disease of Man. Bull. Neurol. Inst. N. Y. 6 : 306-371.

60 Wolf, A. & Cowen, D.

1938. Granulomatous Encephalomyelitis due to a Protozoa (Toxoplasma or Encephalitozoon) II Identification of a Case from the Literature. Bull. Neurol. Inst. N. Y. 7 : 266-290.

61 Wolf, A., Cowen, D. & Paige, H. B.

1939. Toxoplasmic Encephalomyelitis. III a New Case of Granulomatous Encephalomyelitis due to a Protozoan. Am. Jl. Path., 15 : 657-694.

62 Wolf, A., Cowen, D. & Paige, H. B.
1939. Human Toxoplasmosis : Occurrence in Infants as an Encephalomyelitis. Verification by Transmission to Animals. Science, 89 : 226-227.

63 Wolfson, F.
1940. Organisms described as Avian Toxoplasma. Am. Jl. of Hyg. 32 (3), Sec. C.: 88-99.

64 Wolfson, F.
1941. Mammalian Toxoplasma in Erythrocytes of Canaries, Ducks and Ducks Embryos. Am. Hyg. of Trop. Med., 21 (5) : 653.

65 Wright, J. H. & Craighead, E. M.
1922. Infectious motor paralysis in young rabbits. Jl. Exp. Med., 36 : 135.

## ESTAMPA I

*Aspectos dos toxoplasmas em impressões de encéfalo (obs. J. M. Caso I) — Fixador : álcool metílico. Corante : Giemsa.*

Figs. 1 e 2 — Exemplares de *Toxoplasma* com a forma "em crescente". Formas, fina e larga.

Fig. 3 — Forma de divisão longitudinal. Os núcleos já estão separados, enquanto o plasma ainda se conserva indiviso.

Fig. 4 — Forma de divisão longitudinal. As células-filhas ainda estão unidas por uma das extremidades.

Fig. 5 — Quatro parasitos típicos provenientes de um mesmo agrupamento (pseudocisto)

Figs. 6, 7, 8 e 9 — Grupos de parasitos simulando "cistos". Veem-se 4, 8, 16 e 16 exemplares. Em 6, 7 e 9 cada parasito se encontra bem individualizado.

Figs. 10, 11 e 12 — Pseudocistos de diferentes tamanhos, contendo dezenas de toxoplasmas, cujos contornos são indiferençaveis. Cada agrupamento oferece um aspecto falso de esquizogonia.

Fig. 13 — Pseudocisto encerrando centenas de parasitos. Comparar com os outros pseudocistos para ver a diversidade de tamanho dos mesmos.

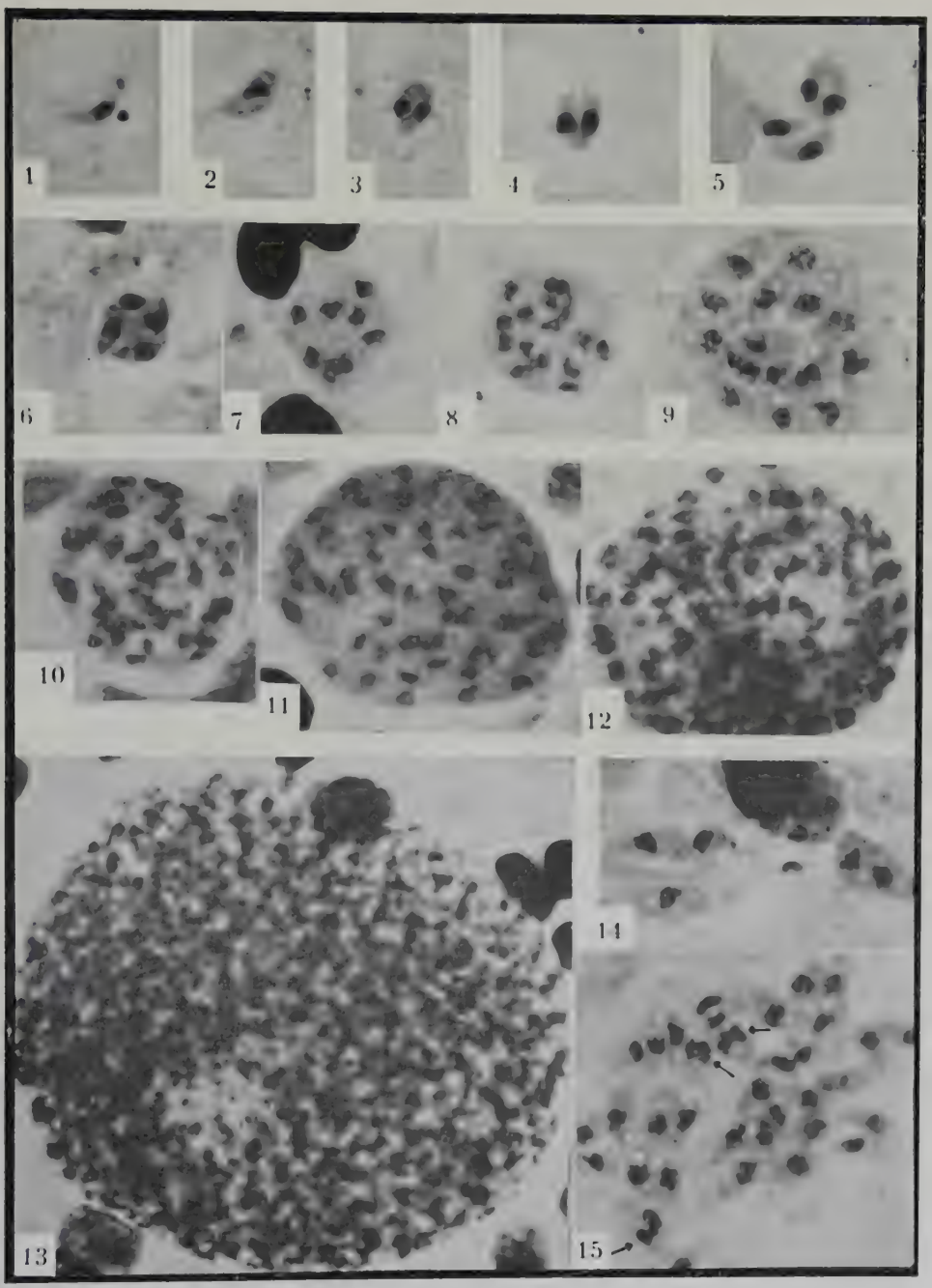
Fig. 14 — Dois parasitos no interior de uma célula mononuclear. Junto, toxoplasmas livres. À direita da figura, vê-se uma forma de divisão de plano diagonal.

Fig. 15 — Parasitos livres, provenientes de um peudocisto rompido mecanicamente, as setas mostram formas de divisão binária.

As figuras 9, 14 e 15 mostram parasitos com vacuolos plasmáticos e contornos irregulares. Tais toxoplasmas são provenientes de zonas necróticas.

Com exceção da figura 13, cujo aumento é de 1.400 diâmetros, todas as figuras são aumentadas 1.700 diâmetros.

Os microfotos desta estampa, como todos os demais do trabalho, foram feitos pelo Sr. Miguel Cezar.




**Nery Guimarães:** Toxoplasmose humana

## ESTAMPA II

*Aspectos dos toxoplasmas nos cortes e em impressões de encéfalo (obs. J. M. Caso I) — Para os cortes : Hematoxilina-eosina. Para as impressões : Giemsa.*

Fig. 1 — Corte de cérebro. Foco de encefalite, contendo dois pseudocistos parasitários. Células mononucleares cercam um vaso sanguíneo, congesto. Os espaços de Wirchow-Robin são aumentados pelo edema. Desenho à Câmara clara. Oc. 5. Obj. 45. Reichert.

Fig. 2 — Impressão de cérebro. Pseudocisto livre (mecanicamente) com toxoplasmas bem individualizados. Desenho à Câmara clara. Oc. 10 Obj. 100 Reichert.

Fig. 3 — Impressão de cerebelo. Macrófago contendo cinco parasitos com distribuição arbitrária. Idem. Idem.

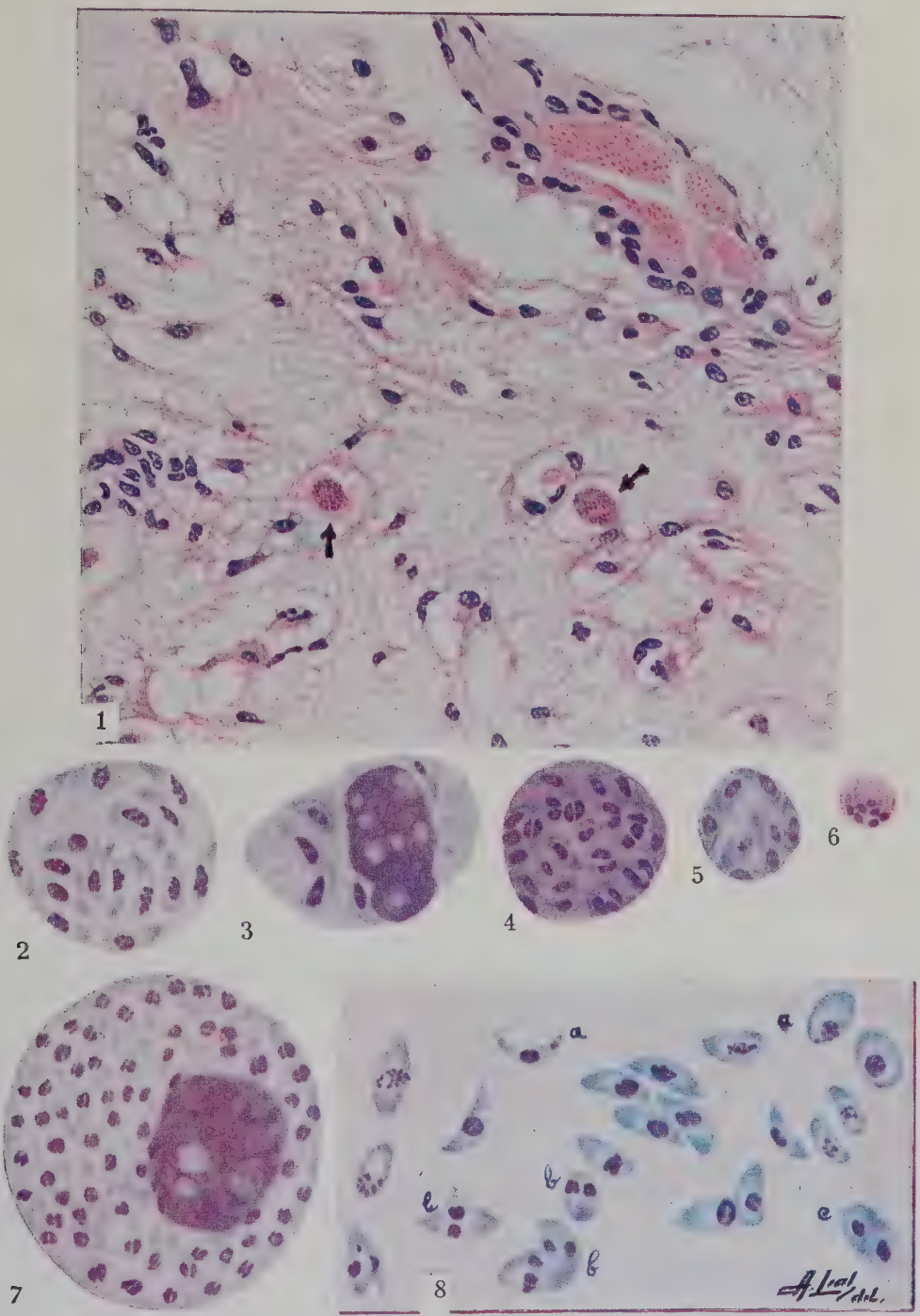
Fig. 4 — Impressão de cérebro. Pseudocisto, no qual não são vistos os contornos dos toxoplasmas, oferecendo o conjunto um aspecto de esquizogonia. Idem. Idem.

Fig. 5 — Pseudocisto composto de oito parasitos bem individualizados. Idem. Idem.

Fig. 6 — Coleção de parasitos desenhada de um corte de cérebro com extensa área inflamatória. Os toxoplasmas estão aí colocados lado a lado, tendo os núcles em uma das extremidades. Idem. Oc. 5. Obj. 100. (Figura semelhante a esta é dada por Chatton & Blanc (12) em seu trabalho fundamental e interpretada como esquizogonia).

Fig. 7 — Impressão de cerebelo. Macrófago, semelhante ao da figura 3, com o plasma cheio de toxoplasmas bem individualizados (pseudocisto). Idem. Oc. 10. Obj. 100.

Fig. 8. — Parasitos livres tomados de diferentes campos microscópicos em impressões de encéfalo : *a*) parasito com formação parecendo corpo paranuclear; *b*) formas de divisão binária longitudinal ; *c*) forma com plano de divisão diagonal. Idem. Idem.




**Nery Guimarães**: Toxoplasmose humana

# Possibilidades de transmissão e vias de inoculação da lepra murina em ratos e outros animais (*)

por

Herminio Linhares

O estudo da lepra murina tem grande importância pelo fato da semelhança das lesões causadas nos ratos com as encontradas no homem. Ambas são produzidas por um bacilo ácido álcool resistente; e como a lepra humana é muito dificil de ser estudada em animais, a lepra dos ratos pode em muitos pontos servir para estudos comparativos.

Pretendemos fazer neste trabalho uma revisão e algumas pequenas contribuições sobre a transmissão da infecção, seja por processos naturais, seja por processos experimentais utilizados nos laborátorios. Em regra estudamos os dois processos juntos porque muita vez tentamos em laboratório reproduzir um tipo de infecção como se deveria dar na natureza ou então, usando artifícios de técnica que viriam melhor precisar certos aspectos obscuros. Assim, por exemplo, se alimentarmos um rato com material infectado o animal pode vir a ter lepra murina. Neste caso, porém, ficamos sem saber se os bacilos penetraram através da mucosa bucal, faríngea, do estômago ou intestino. Por artifício de técnica, entretanto, é possível averiguar se a infecção se dá através de uma em particular ou de tôdas estas mucosas.

Outro aspecto interessante do problema é a infecção de outros animais com lepra murina. Se bem que esta doença seja peculiar aos ratos, e principalmente ao *Rattus norvegicus,* como tivemos oportunidade de averiguar (38), alguns outros animais apresentam certa suscetibilidade à infecção experimental.

A primeira tentativa de inoculação em rato foi feita por Stefansky (83) com resultado negativo. Dean (18) conseguiu, porém, infectá-los. Tais resultados foram confirmados por McCoy (63), Alexandrescu (1), Marchoux e Sorel (59), Muir e Henderson (64) e muitos outros.

A não serem as observações de Gavrilov, Dubois e Fester (21), os pesquisadores são concordes que os ratos, quando inoculados experimentalmente,

* Recebido para publicação a 26 de março e dado à publicidade em junho de 1943.

se infectam em quase 100 % dos casos. Eles pensam que tal desacôrdo resida na influência do clima e das condições de vida.

Nosso trabalho será dividido em duas partes. A primeira constará das vias de infecção natural ou experimental em ratos. A segunda parte tratará da inoculação de outros animais com o bacilo de Stefansky, em particular pintos, pombos e gambás.

1.ª Parte : VIAS DE INFECÇÃO DOS RATOS.

As vias de introdução dos bacilos teem muitas vezes importância fundamental na disseminação da doença pelo organismo. Estudaremos cada uma delas separadamente.

*a) Transmissão por artrópodos*

Muitas observações teem sido feitas afim de averiguar se os artrópodos podem ou não transmitir a lepra murina, ou se ao menos os que parasitam animais infectados albergam bacilos ácido álcool resistentes.

A presença de bacilos em insetos ou outros artópodos não significa que eles transmitam a doença. Em muitos casos os bacilos podem ser digeridos e mesmo que permaneçam durante algum tempo dentro do animal sugador pode não haver possibilidade de transmissão. Por outro lado alguns insetos podem ter apenas um papel de transportador dos bacilos, carregando-os, por exemplo, nas patas.

E' preciso demonstrar, antes de admitir, que os bacilos encontrados no tubo digestivo de alguns artrópodos, são capazes de produzir infecção em rato sadio, por um meio natural.

Wherry (99) alimentou um certo número de *Lucilia caesar, Calliphora vomitoria* e *Musca domestica* em um cadaver de rato muito infectado. As fezes destas moscas encerravam numerosos bacilos durante as primeiras vinte e quatro horas. Após 40 a 48 horas não foi mais possível evidenciá-los. Também lavras de C. *vomitoria* retiradas de um animal morto com infecção, estavam cheias de bacilos. Conclue que as larvas apanhadas em material leproso estão infectadas, porém os bacilos são logo excretados; as larvas de moscas mantidas sôbre material muito contaminado apresentam numerosos bacilos antes de metamorfose, porém não depois. Wherry (100) encontrou também em um piolho (*Haematopinus spinulosus*) de rato infectado, bacilos ácido álcool resistentes.

Currie e Hollmann (16) verificaram que em ratos com lepra murina encontram-se *Laelaps echidninus* que contem muitos bacilos. Durante o estado

septicêmico da moléstia os ácaros podem infectar o tubo digestivo e assim transmitir a infecção. Não está, porém, provado que tais parasitos tenham um papel de agentes vetores da doença. Currie e Hollmann (17) retiraram 32 *L. echidninus* de um rato muito infectado e colocaram em três outros; cerca de um ano depois sacrificaram os animais, mas não foi evidenciada infecção. Também capturaram 100 moscas domésticas que haviam sido alimentadas em material de lepra murina e colocaram-nas em uma caixa com dois ratos sadios cuja pele fôra escarificada afim de facilitar a infecção; os resultados foram negativos.

Marchoux e Sorel (60) fizeram uma série de pesquisas em diversos parasitos, principalmente com um piolho do rato (*Haematopinus spinulosus*) em uma pulga (*Ctenocephalus serraticeps*) e em um ácaro (*Laelaps echidninus*). Foram vãs as pesquisas feitas para descobrir bacilos no tubo digestivo ou órgãos de pulgas que se alimentaram em animais muito infectados. Nos piolhos eles encontram bacilos ácido resistentes, mas com aspecto diferente dos de Stefansky. Em Laelaps observaram três espécies de bacilos ácido resistentes: curtos, semelhantes aos vistos nos piolhos; longos, filamentosos, não ácido resistentes; numerosas fórmas semelhantes às encontradas na lepra murina. Creem que os Sarcoptes da sarna não podem ter senão um papel indireto na difusão da lepra.

Marchoux (43, 44, 45), em outros trabalhos, diz não ter conseguido transmitir a doença por picada em ratos sadios, apesar de ter trabalhado com grande número de cada uma das espécies de artrópodos utilizadas. Conclue que as picadas de insetos não são responsáveis pela transmissão da doença de Stafansky; os Sarcoptes, os Demodex e as moscas podem ter um papel acessório.

Em 1916, Marchoux (46) publicou um trabalho sobre a transmissão da lepra murina pela *Musca domestica*. Ele alimentou-as em material de rato leproso e em seguida colocou-as em ratos com escarificações artificiais. As moscas aí se alimentaram e os ratos ficaram doentes. Tal fato, porém, não ocorreu com as moscas colocadas junto de ratos sadios sòmente depois de 24 horas de contacto com o material leproso. Assim ele verificou que: as moscas veiculam os bacilos nas patas e na probóscida; as fêmeas absorvem mais material que os machos e conservam-no mais tempo nos intestinos; os bacilos permanecem no tubo digestivo durante pelo menos quatro dias, mas não se multiplicam; os bacilos não morrem no intestino destes dípteros. A infecção se faz nas circunvizinhanças do animal doente, não porque as moscas não se afastem, mas sim porque os germes depositados nelas sofrem dissecação rápida e morrem. Marchoux conclue que na natureza a transmissão da infecção por moscas pode se dar, porém é muito rara.

Uchida (85) encontrou bacilos em pulgas capturadas em rato leproso e conseguiu infecção inoculando o triturado.

Markianos (61) não conseguiu transmitir a lepra murina por picada de piolhos alimentados em ratos doentes, mas reproduziu a infecção após triturar e injetar os piolhos infectados.

Há um trabalho de Ichihara (28) sobre a transmissão da lepra murina por um ácaro (*Laelaps nezumi kishida*) o qual não conseguimos obter.

Por fim, em 1939, Marchoux e Chorine (55) dizem que os *Haematopinus spinulosus* e os *Laelaps echidninus* apanhados em animais infectados não transmitem a lepra murina a ratos sadios, se bem que o bacilo possa sobreviver nos Laelaps pelo menos por três dias, como demonstraram pela inoculação do triturado destes parasitos.

Nós observamos várias vezes em *Polyplax spinulosa* (Burmeister) panhados em ratos com lepra murina, bacilos ácido álcool resistentes, algumas vezes em grande número. Estes parasitos que em certos casos são abundantíssimos nos animais doentes, foram levados antes de examinados, em ácido sulfúrico a 5 %. Depois de pelo menos meia hora foram triturados e feitos esfregaços que, corados pelo Ziehl-Neelsen, evidenciavam bacilos semelhantes aos de Stefansky. Não queremos com isto dizer que tais artrópodos sejam transmissores da infecção, porque eles podem albergar os bacilos sem contudo ter capacidade de transmitir a outros animais, o que é provável.

Com um material de Poliplax muito rico em bacilos fizemos cultura em 12 tubos com meio de Löwenstein mas nada obtivemos.

*b) Infecção por via gastro-intestinal*

Esta via tem um interêsse todo particular porque os ratos, animais muito agressivos, se empenham com frequência em lutas e são mesmo capazes de devorar os que morreram. Porisso a via gastro-intestinal é uma das prováveis rotas de infecção natural, pois mesmo experimentalmente tem se conseguido várias vezes reproduzir a doença por administração de alimento contendo material leproso.

Marchoux e Sorel (60) alimentaram ratos jovens com material fortemente infectado. Em oito deles, dois ficaram leprosos e um outro apresentou bacilos nos gânglios mesentéricos e mediastínicos.

Muir e Henderson (64) repetiram essas experiências e tambem obtiveram resultados positivos. Foi porém necessário um longo período de incubação.

Marchoux e Chorine (49) obtiveram bons resultados usando sondas; creem ter demonstrado a permeabilidade da mucosa intestinal. Eles chamam a atenção sôbre a possibilidade de infecção por via digestiva na lepra humana.

Marchoux e Chorine (52) conseguiram também infectar ratos através da mucosa bucal. Tôdas as precauções foram tomadas para não contaminar o esôfago. Em um, entre cinco ratos, desenvolveu-se infecção nos gânglios submaxilares.

Marchoux e Chorine (51) infectaram ratos instilando no reto emulsão contendo bacilos de Stefansky. Nos gânglios mesentéricos encontram bacilos.

Watanabe (91) conseguiu produzir infecção por via oral. Não encontrou modificações dos gânglios mesentéricos. Apenas em um caso, cinco meses após a administração de material leproso, foram encontrados bacilos ácido-resistentes nos gânglios axilares, em pequeno número.

Nós administrámos a cinco ratos brancos adultos, emulsão de leproma recém extirpado de rato, e muito rico em bacilos. Afim de evitarmos contaminação pela mucosa bucal ou faríngea, fizemos finas sondas de vidro que foram adaptadas a serigas de tuberculina. Os ratos foram anestesiados com éter e a sonda facilmente introduzida. Cada animal recebeu 1 c.c. da emulsão.

Todos êles se infectaram. Foram examinados a partir do quinto mês; os gânglios mesentéricos de três deles estavam hipertrofiados. Havia bacilos não só nestes gânglios, como também nos superficiais e nos órgãos internos. O pulmão de um deles apresentava-se riquíssimo em bacilos, contendo mesmo globias (quadro n. 1.).

Verificamos, portanto, que os ratos se infectam por via gastro-intestinal com facilidade. Talvez na natureza esta seja uma das vias de infecção, porque os ratos devoram às vezes o cadáver de outros e, se dentre êstes, algum estiver infectado, pode contaminar o rato sadio.

**QUADRO N. 1**

PESQUISA DE BACILOS ÁCIDO ALCOOL RESISTENTES EM RATOS QUE RECEBERAM 1 CC. DE EMULSÃO DE LEPROMA POR VIA GASTRICA

| N.º DO ANIMAL | TEMPO DE INOCULAÇÃO | PESQUISA DE BACILOS | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Ganglio mesen. | Ganglio axilar | Ganglio inguinal | Pulmão | Fígado | Baço | Rim |
| 1 | 169 dias | + | + | + | + + ⊕ | + | + + | + |
| 2 | 201 » | + + | + | + | + + | + + | + + | + |
| 3 | 213 » | + + | + | + | + + | + | + + | — |
| 4 | 222 » | + + | + | + | + + | + + | + + | + |
| 5 | 276 » | + + | + | + | + | + + | + + | + |

c) *Infecção através da pele.*

Muitas são as pesquisas feitas até hoje afim de averiguar se os bacilos penetram através da pele íntegra ou com soluções de contínuidade. Normalmente a pele é uma barreira natural à entrada dos bacilos. Entretanto, como na lepra murina as lesões dos gânglios superficiais e mesmo da pele são as mais frequentes não parece ilógico supor que a doença tem uma origem superficial.

Currie e Hollmann (17) colocaram 11 ratos sadios junto a diversos outros doentes. Depois de permanecerem assim por alguns meses foram isolados e mais tarde examinados. Sete deles estavam doentes. Tratar-se-ia neste caso de infecção produzida por escarificações, tão frequentes nos ratos?

Fato mais interessante foi visto por Wayson (97): ratos normais separados a alguma distância de outros doentes ficaram por sua vez doentes. Marchoux e Sorel (60) acham que a pele normal é uma barreira natural à infecção. Entretanto, se forem feitas escarificações ou mesmo uma simples depilação, a infecção se processa. Eles fizeram escarificações ligeiras em seis ratinhos e esfregaram nestas áreas material de lepra murina. Em todos os animais a infecção se processou. Mais tarde, Marchoux (44) disse que o contacto direto e as mordeduras talvez fossem a única via natural de importância.

Lampe e Moor (34) infectaram animais friccionando fortemente o material contaminado, até mesmo a saída de sangue. Êles trabalharam não só com ratos normais como também com outros em hipovitaminose. Conseguiram infecção experimental em mais de 90 % dos casos. Lampe (32) fez também em um grupo de ratos, fricções sangrentas com lama proveniente da casa de leprosos onde também haviam sido capturados ratos doentes. Os animais ficaram seis meses em contacto com o conteúdo de esgotos e com lama. Verificou que ratos de laboratório sem contacto direto com animais doentes podem apresentar manifestações que bacterioscópica, histopatológica e clinicamente não se distinguem da lepra murina natural. Os animais em regime de hipovitaminose B2 foram os mais atingidos. Lampe, Moor e Van Veen (35, 36) prosseguiram estas experiências com a lepra de lama, usando fricções sangrentas para infectar os animais e obtiveram resultados os mais diversos.

Lampe e Lobel (33) continuando nos estudos sobre infecção por contacto, conseguiram infectar ratos brancos jovens, após contacto íntimo com outros doentes, nos quais haviam lesões cutâneas. Quando a fórma era a ganglionar não reproduziram a infecção; dizem que a transmissão nesta forma da doença, que é a mais comum, é incerta.

Marchoux e Chorine (53) observaram que as menores lesões superficiais, tais como erosões e arrancamentos de pêlos, permitem a penetração dos bacilos. Êles verificaram (56) que a infecção somente se produz quando há lesão no bulbo piloso permitindo a penetração dos bacilos atravéz do local lesado.

Walker e Sweeney (89, 90) creem que a lepra é uma doença do solo e os ratos a contraem por contaminação das feridas.

Ohtawara e Ichihara (68) dizem que a doença é mais frequente em ratos capturados em casas de cereais, em quitandas ou outras casas similares; êles pensam que bacilos podem ser transmitidos por intermédio de grãos ou cereais ou mesmo pela terra.

Como os ratos são animais muito lutadores é bastante provavel que produzindo soluções de continuidade na pele estas sirvam de porta de entrada quando ficam em contacto com lesões da lepra murina. E' tambem possivel que a mordedura de um rato infectado seja capaz de transmitir a infecção.

*d) Transmissão congênita.*

Pouco são os trabalhos feitos sôbre este assunto em lepra murina.

Marchoux (47) pensa que infecção congênita nunca se dá. Êle verificou que ratos oriundos de fêmea infectada e dela separados não apresentam mais tarde a lepra dos ratos. Em período adiantado da infecção os órgãos genitais dos adultos são atingidos, havendo esterilidade.

Em 1931 Le Guyon (37) observou que filhos de fêmeas de ratos leprosos morriam três a cinco semanas depois do nascimento sem que a autopsia revelasse sinais de infecção. Resolveu amamentar filhos de ratas leprosas em outras normais e viceversa. Verificou que os ratos nascidos de fêmea normal aleitados em ratas doentes morriam antes de cinco semanas, enquanto os alimentados em fêmea normal ficavam sadios, apesar de serem filhos de fêmea doente. Tal fato mostra que não há infecção hereditária. A morte se processa aparentemente devido à má nutrição no período de aleitamento pois a fêmea doente pode ter as glândulas mamárias afetadas. A pesquisa do bacilo não foi feita no leite.

Watanabe (92) observou que ratinhos, filhos de um ou de dois ratos leprosos não mostram resistência à infecção experimental, mas também sua sensibilidade não é maior que nos provenientes de ratos normais. Por consequência a lepra dos ratos não é hereditária e a infecção paterna não confere às crias resistência ou sensibilidade especial à molestia.

Hatta (25) não encontrou diferença na suscetibilidade à infecção experimental em ratos jovens cujo pai, mãe ou ambos eram leprosos, em relação aos nascidos de pais normais. Infecção de ratos jovens, guardados com pais leprosos, não foi observada.

Ainda existe um trabalho de Nakamura (65) sôbre este assunto, o qual não foi possível obter.

Já tivemos oportunidade de examinar fetos de ratas leprosas sem contudo encontrarmos bacilos. Também já fizemos pesquisas idênticas em ratos jovens criados dentro da mesma gaiola e oriundos de ambos os pais leprosos; mas, pelo menos no primeiro mês, não nos foi possivel encontrar bacilos nem nos gânglios linfáticos superficiais nem nos órgãos internos.

e) *Instilação nasal.*

O achado de bacilos ácido álcool resistentes no muco nasal de ratos infectados sugeriu que pudesse ser êste o local inicial de infecção, ou pelo menos uma fácil via para a produção de lepra murina experimental. Dean (18), Wherry (99), Marchoux e Sorel (59), Souza Araujo (82) e outros encontraram bacilos na secreção nasal dos ratos com lepra. Marchoux e Sorel (59) tentaram infectar ratos por esta via com resultados negativos. Burnet (11) porem conseguiu infectá-los; êle diz que em geral a instilação determina infecção pulmonar em camondongo, porém o rato é menos sensível por esta via.

Wayson e Masunaga (98) fizeram um trabalho muito interessante sôbre a possibilidade de infecção por via nasal. Êles conseguiram infectar ratos por simples instilação de algumas gotas de suspensão de tumor de rato. Não produziram traumatismo na mucosa nasal.

*f) Via subcutânea.*

Esta via tem sido a mais usada, não só para as passagens em série, como também para várias outras experiências.

Dean (18) conseguiu obter lesões na pele, no local da inoculação, assim como lesões generalizadas capazes de serem reproduzidas em série. Idênticos resultados obtiveram Marchoux e Sorel (59) se bem que raramente encontrassem lesões cutâneas locais.

Muitas outras observações foram feitas com resultados semelhantes e podemos citar Fukamachi (20), Uchida (84, 85), Henderson (27), Lowe (41), Souza Araujo (82), Lampe e Moor (34).

Badger e Sebrell (3) inocularam por esta via ratos brancos normais e com alimentação deficiente em vitamina B1. Verificaram que o período de incubação da doença para os ratos em regime carente de vitamina foi muito menor do que nos com alimentação normal.

Marchoux e Chorine (50) verificaram que cinco bacilos de Stefansky são suficientes para infectar o rato branco quando são introduzidos por via subcutânea. Os mesmos resultados que se obtem em quatro ou cinco meses inoculando grandes doses, podem ser obtidos em oito meses se se inocula 500 bacilos, em nove meses se 50, ou em 10 meses para oito bacilos. Kawamura e Uchida (30) tambem observaram a relação existente entre a quantidade de bacilos e o tempo da infecção no rato.

Em outras experiências, Marchoux e Chorine (54) observaram que o fenômeno de Koch não se produz em ratos reinoculados com bacilos de Stefansky. Ao contrário, resulta uma nova infecção que agrava a primeira e é tanto maior quanto mais numerosas forem as inoculações. Burnet (10) também chegou às mesmas conclusões. Viu que, após inoculações repetidas, há um aumento da sensibilidade, mas não uma alergia específica.

Watanabe (94) inoculou por esta via ratos normais, com emulsão de bacilos da lepra murina mortos por aquecimento a 70.°C; em tais animais desenvolveu-se um certo grau de resistência a inoculações subsequentes de emulsão de leproma fresco de rato. Por outro lado, a inoculação em ratos, de uma emulsão de leproma humano aquecido, não conferiu proteção contra a subsequente infecção de lepra murina.

Uchida (86, 87) observou que ratos infectados por via subcutânea e alimentados em regime carente de vitamina A, são mais sensíveis à falta desta vitamina que os ratos normais alimentados de modo idêntico. Após uma série de experiências êle conclue que a vitamina A retarda o aparecimento das alterações mórbidas do rato, mas a vitamina B não tem esta influência.

Esta via tem sido usada comumente pelos pesquisadores e os resultados mostram-se semelhantes aos obtidos após inoculação subcutânea.

*g) Inoculação intraperitoneal*

Dean (18) assinalou lesões extensas após a inoculação intraperitoneal. Elas consistiam em nódulos, infiltração de epiplon por massas ricas em bacilos fagocitados, lesões dos gânglios mediastínicos e por fim infecção geral.

Mazza (62) injetou bacilos de Stefansky por via intraperitoneal em ratos e cobaias. Verificou que os bacilos são absorvidos ràpidamente pelos polinucleares, sobretudo no início. Um certo número dêles são destruidos, os

núcleos entram em picnose e são englobados com os parasitos que encerram, pelos mononucleares.

Nossas observações sôbre esta via são perfeitamente idênticas às dos outros pesquisadores.

*h) Inoculação intradérmica*

Lowe (41) conseguiu com êste método produzir lesões cutâneas assim como alterações ganglionares. Após um ano da inoculação a infecção generalizou-se.

Esta via foi usada por Lyon (42) que fez inoculações de uma emulsão do bacilo de Stefansky preparada segundo a técnica de Mitsuda. Êle verificou que não havia reação nítida nem em rato leproso nem sadio. Assim, o rato não reage à leprolina de Mitsuda.

*i) Inoculação intracardíaca*

Lowe (40) conseguiu produzir lesões cutâneas e ganglionares e mais tarde generalização da infecção quando utilizou esta via.

*j) Inoculação venosa*

Bernard (5) produziu infecção generalizada após inoculação venosa.

Watanabe (93) também observou alterações leprosas nos órgãos internos dos ratos inoculados por êste processo.

Esta via serviu a Grall (23) para o estudo do bloqueio do sistema retículo endotelial na lepra murina. Inoculou carmim, tinta da China e carvão animal e pouco depois, pela mesma via, emulsão de leproma do rato. A diferença do grau de infecção nos animais com bloqueio e nos controles foi muito ligeira. A evolução da lepra não foi modificada pelo bloqueio.

*k) Inoculação intraocular*

Guilliny e Montestruc (24) produziram lesões no corpo ciliar por inoculação na câmara interior do olho.

Chorine, Guilliny e Montestruc (15) inocularam bacilos na câmara anterior do olho e observaram mais tarde formação de leproma que teve sua origem nos processos ciliares, se estendeu à iris, à coróide anterior e à esclerótica, mas se desenvolveu sobretudo na zona anterior do olho. Não houve extensão da infecção para o lado das meninges cerebrais.

Chauchard e Chorine (13) também utilizaram esta via.

Marchoux, Chorine e Koechlin (57) verificaram a possibilidade de infecção depositando na conjuntiva uma gota de emulsão rica em bacilos de Stefansky. Não se formou cancro de inoculação no ponto em que os bacilos penetraram no tecido e nenhuma modificação histológica marcou a passagem.

Marchoux e Chorine (48) observaram que a contaminação de ratos recemnascidos em contacto com fêmeas, que apresentavam ulcerações, se deu por penetração dos bacilos pelo olho. Os ratos adultos postos em contacto com outros que apresentam ulcerações bacilíferas se infectaram pela conjuntiva tão fàcilmente como os jovens. A suscetibilidade nos ratos jovens não é maior que nos adultos.

*l) Via intracerebral*

Chauchard e Chorine (13) infectaram ratos por via intracerebral. Estudaram as modificações da excitabilidade nervosa nos ratos infectados por êste modo ou por via ocular. Nos ratos com lepra murina observaram uma diminuição nítida da reobase e um aumento das cronaxias tanto mais acentuado quanto mais avançada está a molestia. Ratos leprosos sem terem lesões aparentes do sistema nervoso demonstraram hipersensibilidade periférica à qual vem se superpor uma ação de subordinação dos centros, de ordem nitidamente patológica.

Esta via foi usada por Sellards e Pinkerton (80) com resultados favoráveis. Êles verificaram (81) que a infecção se desenvolve rapidamente após a introdução de bacilos de Stefansky no cérebro ou no baço. Depois da injeção intracerebral as células leprosas formam acúmulos nas regiões perivasculares e aracnoides se espalhando por toda a superfície do cérebro e da medula. Elas se distribuem sob o neurilema dos nervos periféricos produzindo uma atrofia nervosa.

Marchoux, Chorine e Koechlin (58) verificaram que os ratos podem sobreviver após a inoculação dos bacilos da lepra murina dentro das membranas cerebrais e mesmo dentro do proprio cérebro. As membranas, principalmente a duramater, tornam-se ràpidamente infectadas. A inoculação por via ocular às vezes se extende às membranas cerebrais. Neste caso lepromas podem se desenvolver na substância nervosa do cérebro com comprometimento do endotélio vascular e tecido perivascular. Se os bacilos atingem o nervo ciático os linfáticos adjacentes são muito afectados. Sintomas de irritação meníngea puderam ser observados.

Watanabe (91) inoculou 0,05 c.c. de emulsão de tecido leproso de rato por via subdural. A única alteração encontrada foi infiltração da duramater no local da inoculação. Foram observados poucos bacilos no baço, fígado e

gânglios linfáticos superficiais, especialmente os axilares. Encontrou poucos bacilos no cérebro, na medula e no liquor em certos casos.

Papaioannu (75) observou que após a inoculação intracerebral os ratos ficam caquéticos e morrem em três meses. Pela autópsia, numerosos bacilos foram encontrados no cérebro e nas vísceras, sobretudo no fígado.

*m) Infecção genital*

Marchoux e Sorel (59) conseguiram infectar ratos machos colocando no prepúcio material de rato leproso.

Chorine e Berny (14) infectaram fêmeas colocando emulsão na vagina. Não observaram cancro local, mas a mucosa foi atravessada pelos bacilos, dando infecção generalizada. Concluem que nos ratos machos ou fêmeos a infecção pode se dar por passagem de bacilos através da mucosa genital. Êles sugerem a possibilidade de haver casos semelhantes no homem.

2.ª Parte: INOCULAÇÃO DE BACILOS DE STEFANSKY EM ANIMAIS

Há sempre interêsse, quando se estuda um agente patogênico, averiguar quais os animais sensíveis às inoculações, afim de melhor ser estudada a doença por êle produzida.

O bacilo da lepra dos ratos tem sido inoculado em muitos animais e os resultados obtidos são geralmente concordes.

Dean (18) não poude infectar cobaia, coelho, camondongo e macaco (Rhesus). Muir e Henderson (64) não conseguiram infectar macacos, coelhos, e Hamsters chineses.

Sato (76), após uma série de experiências concluiu que o bacilo da lepra murina é um agente patogênico peculiar dos ratos e camondongos e que não produz infecção na cobaia, coelho e no esquilo, mas pode causar na galinha formação mais ou menos nítida de nódulos, no local da inoculação.

Demandez (19) alimentou com leproma de rato, durante muitos meses, peixe de aquário, não tendo conseguido infecção apesar de bacilos ácidos resistentes terem sido encontrados nos intestinos um mês depois. Com inoculações simultâneas de extrato acetônico de bacilo da tuberculose e bacilo de Stefansky (10 injeções) conseguiu lesão local no coelho, sem generalização. Os bacilos da lesão foram patogênicos para o rato.

Urabe (88) verificou a suscetibilidade da *Eutamia asiaticus orientalis* após inoculação subcutânea com bacilos da lepra murina. A resposta local foi mais pronta e mais intensa do que nos ratos brancos. Depois de cinco meses foram encontrados nódulos e alterações histopatológicas da lepra murina nos gânglios linfáticos e nos órgãos.

Watanabe (93) não conseguiu infectar cobaias, coelhos e macacos por inoculação subcutânea e intratesticular de emulsão de nódulos de rato infectado.

Balfour-Jones (4) verificou que o Hamster é suscetível à inoculação subcutânea e intraperitoneal. As lesões mais frequentes foram observadas no fígado e no baço, mas em certos casos os pulmões e rins também estavam atingidos.

Berny (6, 7) inoculou coelho e cobaia e observou empastamento local, principalmente na primeira semana, o qual pode supurar ou ser reabsorvido. Averiguou também que o bacilo permanece vivo na cobaia pelo menos por 39 dias. Mais tarde verificou com Tanguy (8) que o bacilo de Stefansky conserva sua ação patogênica para o rato após dois meses na cobaia, sem poder afirmar que êles estão no limite da vitalidade. Notaram, porém, que quanto mais tempo os bacilos permanecem na cobaia, tanto mais tarde aparece a moléstia no rato.

Ohtawara, Ichihara e Suzuki (69) escreveram um trabalho sôbre a conservação do bacilo da lepra murina no corpo de animais refratários. Nós não conseguimos obter êste artigo.

Schlossberger e Koch (79) infectaram camondongos e cobaias, porém não em grande número. Êles pensam que as variações nos resultados obtidos pelos diversos autores sejam devidas a diferenças biológicas das amostras usadas.

Laigret (31) inoculou coelhos e cobaias com bacilos de Stefansky. Os animais haviam recebido também um extrato acetónico de bacilos da tuberculose. Êle verificou que tal extrato produz um princípio de generalização da lepra murina em animais considerados refratários.

Gavrilov, Dubois e Fester (22) observaram que certos regimes alimentares carenciais, especialmente a deficiência em vitaminas, pode predispor à infecção, cobaias inoculadas com bacilos de Stefansky. O regime mais carente deu resultados mais acentuados.

Yamamoto (101) fez um estudo sobre as alterações pulmonares dos camondongos, ratos brancos e galinhas inoculados com lepra humana ou murina.

Sellards e Pinkerton (81) afirmam que a inoculação intracerebral em macacos (Rhesus), coelhos, ratos brancos e camondongos brancos produz lesões progressivas. Em cobaia, tal fato não se dá.

Chabaud (12) infectou camondongos com lepra murina. Verificou que a virulência aumenta com o número de passagens e que varia com a amostra usada.

Vamos agora estudar com mais detalhes a infecção experimental nas gambás, nos pintos e nos pombos.

a) *Infeção de gambá* (Didelphis aurita) *com lepra murina*

Em 1931, Boyé (9) capturou em Caiena uma gambá (*Philander cancrivor?*) que estava muito caquética e apresentava placas de alopécia disseminadas pelo corpo. No membro posterior esquerdo havia infiltração dérmica, amputação de falanges e o coto subexistente apresentava o aspecto globoso característico das amputações espontâneas da lepra humana. A autópsia mostrou hipertrofia dos gânglios mesentéricos. O exame microscópico revelou a presença de bacilos ácido álcool resistentes em um gânglio inguinal, assim como na serosidade cutânea. Os bacilos estavam, em geral, isolados; eram delgados e ligeiramente curvos, às vezes muito curtos podendo aparecer aos pares ou mais raramente em globias de quatro a oito elementos.

Jordan (29), em 1934, inoculou gambás (opossums) por via intracutânea, com material de lepra humana, mas não encontrou modificações visíveis ou palpáveis. Por outro lado, autopsiou 25 animais não inoculados, fez esfregaços dos órgãos e corou pelo Ziehl-Neelsen sendo os resultados sempre negativos. Também não encontrou bacilos em 50 pulgas provenientes dêstes animais.

Em 1935, Aragão e Penido (2) inocularam 55 gambás (*Didelphis aurita*) jovens e adulto, principalmente por via subcutânea, mas também usaram a via intraperitoneal, pleural e óssea. Trabalharam com material de lepra humana. Concluíram que as gambás não apresentam nenhuma suscetibilidade particular para a lepra humana, podendo entretanto haver uma longa sobrevivência dos bacilos nos pontos inoculados ou muito próximo dêles.

Em prosseguimento aos estudos que vimos fazendo sôbre a lepra murina, resolvemos também fazer algumas pesquisas em gambás, da espécie *Didelphis aurita*.

Inicialmente colhemos fezes de 22 gambás aparentemente normais, fizémos um processo de enriquecimento e pesquisámos bacilos ácido álcool resistentes. Os resultados foram negativos. Para maior confirmação sacrificámos 10 animais e colhemos os gânglios linfáticos superficiais e os órgãos internos. Foram feitos esfregaços de todo este material e corados pelo Ziehl-Neelsen, não tendo sido evidenciados bacilos.

Um lote de seis animais adultos foi inoculado na região inguinal esquerda com suspensão de leproma de rato, muito rico em bacilos. Cada animal recebeu 2 c.c. Quatro dêles morreram nos primeiros dias após a inoculação, sendo desprezados. Os dois restantes morreram três meses depois.

Um dêles apresentou no gânglio inguinal esquerdo bacilos ácido álcool resistentes. Tentativas de cultura com êste material em quatro tubos com meio de Löwenstein, foram infrutíferas.

A outra gambá apresentava hipertrofia do gânglio inguinal esquerdo e numerosos microabcessos no pulmão. Esfregaços dos órgãos corados pelo Ziehl-Neelsen mostraram bacilos ácido alcool resistentes em número relativamente grande no pulmão, fígado e gânglio inguinal esquerdo; no baço e no gânglio inguinal direito foram observados poucos bacilos.

Como o pulmão fôsse o órgão mais rico, cortámos um pedaço, triturámos em gral e fizemos semeadura em 12 tubos com meio de Löwenstein; não conseguimos obter cultura.

Outrossim, foi feito exame histopatológico do pulmão pelo Dr. Magarinos Torres que nos enviou o seguinte resultado:

> "O granuloma da lepra murina, formado por células mononucleadas de grandes dimensões, com o citoplasma finamente vacuolado, infiltra o folheto parietal da pleura, invadindo, em pequena extensão, o parênquima pulmonar subjacente".

Êsses resultados, obtidos em animal inoculado há apenas três meses, sugerem que talvez as gambás sejam mais suscetiveis à lepra dos ratos do que à lepra humana.

*b) Infecção de pintos e pombos com lepra murina*

Ultimamente, as galinhas e principalmente frangos e pintos teem sido objeto de reiterados estudos com lepra humana e dos ratos.

Sato (77) inoculou galinhas na crista e no músculo do peito e observou a formação de nódulos, mais ou menos nítidos, na crista. Eles aumentaram de tamanho até o terceiro mês, começando então a regredir. O tecido granulomatoso era formado por células epitelióides, vacuoladas ou não, havendo ainda células gigante e numerosos bacilos. Com exceção da necrose na parte central, a estrutura do granuloma foi quase idêntica à da lepra murina espontânea. Verificou ainda endoflebites e bacilos em alguns orgãos internos. Mesmo após duas passagens ainda ocorreu formação de nódulos, principalmente na crista. Concluiu que a galinha é muito sensível à lepra dos ratos; há formação de nódulos, os quais conteem bacilos vivos por muito tempo, porém o processo parece que não progride e, em raros casos, êle pensa ser possível a distribuição hematógena dos bacilos.

Ota e Sato (71, 72, 73, 74) em pesquisas minuciosas obtiveram resultados interessantes. Inocularam frangos com emulsão de nódulos subcutâneos e

também de fígado e baço de ratos com lepra murina. Cada animal foi inoculado duas ou três vezes e sacrificado seis a oito meses após a primeira injeção. No local da inoculação, isto é, no peito, foram encontrados concreções amarelas, circunscritas, nas quais existiam numerosíssimos bacilos. O tecido de granulação era composto de células epitelióides e grandes células leprosas cheias de bacilos. Nos órgãos internos tambem foram observadas lesões. Acham que as galinhas são animais suscetiveis à lepra humana e murina.

Ota (70) inoculou mais de 100 galinhas e frangos na região peitoral e encontrou granulomas que apareceram três meses depois e persistiram por seis a 12 meses.

Sato e Nakano (78) observaram que galinhas postas em carência vitamínica, apresentam lesões no peritôneo e mesentério, após inoculação com lepra humana e murina, consistindo histologicamente de linfocitos, polimorfonucleares macrófagos e eosinófilos. Essas lesões mostravam nítidas tendências à necrose, porém não eram encontrados bacilos nelas.

Nonaka (66, 67) fez uma série de experiências em galinhas com bacilos da lepra humana e do rato e tambem com bacilos ácido alcool resistentes não patogênicos. A inoculação de tumor do rato produziu nítida granulação leprosa em todos os animais, mas raras vezes as vísceras foram atingidas. Na segunda geração as alterações produzidas foram mais fracas e não houve infecção visceral. Inoculou emulsão previamente aquecida e verificou no local algumas leves alterações que desapareceram rapidamente. As lesões locais produzidas com material de lepra murina foram mais difusas que com o material humano.

Watanabe e Nonaka (95, 96) fizeram inoculação em frangos usando material humano e de rato. Verificaram que inoculações repetidas de emulsão de tecido de lepra murina, no músculo do peito, produzem granuloma leproso no local da inoculação. Não observaram modificações macroscópicas ou microscópicas nas víceras, mas encontraram ocasionalmente no local da inoculação nódulos semelhantes aos produzidos por inoculação de lepra humana. Com este material observaram não só granuloma local, como tambem nódulos miliares especialmente no fígado.

Há ainda um trabalho escrito em japonês de Hayashi e Nagai (26) sobre a inoculação de material humano e de rato em frangos.

Vamos agora descrever as experiências e os resultados por nos obtidos após inoculação de lepra murina em pintos e em pombos.

Material e métodos:

Animais : os pintos por nós usados pertenciam à raça Leghorn; a idade era de dois dias para sete dêles, de 15 dias para seis e apenas um com trinta dias. Os pintos de 15 dias haviam sido postos em regime carencial, cerca de cinco dias antes de serem inoculados. Quanto aos pombos, em número de cinco, eram também jovens, com cerca de 30 dias de idade.

Material inoculado: usamos emulsão de leproma de rato, recentemente extirpado, triturado em gral e feita a suspensão em sôro fisiológico.

Métodos de inoculação: foram feitas inoculações em pintos, no músculo do peito, por via intraperitoneal, via gástrica e por instilação na córnea. Os pombos receberam suspensão por via venosa e no músculo do peito.

A dose usada dependeu não só da idade do animal, como também da via utilizada. Assim, os pintos de dois dias inoculados no músculo do peito, receberam 0,2 c.c. de emulsão do tumor. Os pintos que sofreram instilação na córnea receberam 0,06 c.c. Todos os demais, incluidos os de dois dias, nos quais usamos a via gástrica, receberam 1 c.c. do material. Tambem os pombos, por qualquer das vias usadas, foram inoculados com 1 c.c. Dentre esses animais, alguns foram reinoculados uma ou mesmo duas vezes, sempre com emulsão de leproma recém preparado e pela mesma via anteriormente usada.

Quanto à inoculação por via gâstrica, procedemos do seguinte modo: foram feitas sondas finas, de vidro e ligadas a seringas comuns. Os pintos foram anestesiados com éter e a sonda introduzida com facilidade. A possibilidade de traumatismo não pode ser completamente afastada, mas todos os cuidados foram tomados para evitá-lo.

Parte experimental:

A maioria dos animais morreu dentro do intervalo de um mês, por causas diversas. Assim, os animais em regime carente em vitamina B1, morreram com o quadro típico da doença de Eijkman. Nós tivemos a intenção de verificar se nestes animais doentes, com o organismo debilitado, haveria maior possibilidade de invasão por parte do germe inoculado. Os animais que sobreviveram a êste período foram mais tarde sacrificados.

Os pintos que morreram ou foram sacrificados, não mostraram, ao exame macroscópico, lesões que pudessem ser imputadas à infecção leprosa. Foi feito exame microscópico dos órgãos de todos os animais. Com o material colhido foi feito imediatamente após a autópsia esfregaço e corado pelo método de Ziehl-Neelsen.

Os animais inoculados no peito, quer com alimentação normal quer em regime carencial, num total de sete, que morreram entre o 5.º e o 22.º dia post-inoculação, mostraram bacilos, não só no local, como também no baço, fígado e mais raramente nos pulmões. Tais microorganismo nunca se encontravam em grande número; em geral viam-se raros bacilos isolados (quadro n. 2). Um outro frango, inoculado três vezes e sacrificado 81 dias após a primeira injeção mostrou, nos esfregaços, bacilos no músculo do peito, no fígado e no baço.

QUADRO N. 2

PESQUIZAS DE BACILOS ÁCIDO ÁLCOOL RESISTENTES EM PINTOS INOCULADOS NO MÚSCULO DO PEITO

| NÚMERO DO ANIMAL | DOSE INOCULADA | IDADE | TEMPO DE INOCULAÇÃO | PESQUIZA DE BACILOS | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Pulmão | Fígado | Baço | Rim | Peito |
| 1 | 0,2 cc | 2 dias | 15 dias | + | + | + | — | + |
| 2 | 0,2 cc | 2 dias | 7 dias | — | — | + | — | + |
| 3 | 0,2 cc | 2 dias | 25 dias | — | + | + | — | + |
| 4 | 0,2 cc | 2 dias | 22 dias | — | + | + | — | + |
| 6(1) | 3 cc | 30 dias | 81 dias | — | + | + | — | ++ |
| 14 | 1 cc | 15 dias | 5 dias | + | + | ++ | — | + |
| 15 | 1 cc | 15 dias | 13 dias | — | — | — | — | — |
| 16 | 1 cc | 15 dias | 21 dias | — | + | + | — | + |

1) Reinoculado com 1 cc. em intervalo de 30 dias.
Pintos 14, 15 e 16 com avitaminose.

Dois pintos, com dois dias de idade, que sofreram instilação do material leproso na córnea e foram sacrificados respectivamente 25 e 54 dias depois, deram resultados negativos.

Três pintos receberam emulsão de virus por via gâstria, dois dos quais foram reinoculados. Obtivemos dois resultados negativos e um positivo. Tal fato vem demonstrar que também é possível infetar pintos por via gâstrica (quadro n. 3).

Por fim, os resultados obtidos em três animais com regime carencial inoculados por via intraperitoneal, demonstram que dêste modo também se processa a infecção.

Como a grande maioria dos pintos inoculados morreu poucos dias após a infecção, é de supor que os bacilos encontrados nos diversos órgãos sejam transportados por via sanguínea.

QUADRO N. 3

PESQUIZA DE BACILOS ÁCIDO ÁLCOOL RESISTENTES EM PINTOS INOCULADOS POR VIA GÁSTRICA E INTRAPERITONEAL

| NÚMERO DO ANIMAL | DOSE INOCULADA | VIA | IDADE | TEMPO DE INOCULAÇÃO | PESQUIZA DE BACILOS | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Pulmão | Fígado | Baço | Rim |
| 8(*) | 5 cc. | gástrica | 2 dias | 83 dias | + | ++ | ++ | — |
| 9(*) | 3 cc. | gástrica | 2 dias | 83 dias | — | — | — | — |
| 10 | 1 cc. | gástrica | 2 dias | 23 dias | — | — | — | — |
| 11 | 1 cc. | i. p. | 15 dias | 10 dias | — | + | + | — |
| 12 | 1 cc. | i. p. | 15 dias | 10 dias | — | + | ++ | — |
| 13 | 1 cc. | i. p | 15 dias | 21 dias | — | + | + | — |

*) Pintos inoculados três vezes com intervalo de 30 dias.
Pintos 11, 12 e 13 avitaminose.

Com pombos obtivemos resultados semelhantes. Foi porém possível observá-los por mais tempo e, pelo menos em dois inoculados no peito, tivemos a impressão de que havia um processo infeccioso em progressão. Ambos os animais tinham sido inoculados três vezes com 1 c.c. de suspensão de leproma recém-preparada. Estavam muito magros e um dêles, o número 17, apresentava um abcesso supurado no local da inoculação, existindo aí numerosos bacilos ácido álcool resistentes (quadro n. 4).

Os animais infectados por via venosa morreram dias após a inoculação e a presença de bacilos nos órgãos internos talvez não tenha grande significação.

QUADRO N. 4

PESQUIZA DE BACILOS ÁCIDO ÁLCOOL RESISTENTES EM POMBOS INOCULADOS NO MÚSCULOS DO PEITO E POR VIA VENOSA

| NÚMERO DO ANIMAL | DOSE INOCULADA | VIA | TEMPO DE DE ÇÃO | PESQUIZA DE BACILOS | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Pulmão | Fígado | Baço | Rim | Peito |
| 12 | 1 cc. | peito | 10 dias | — | + | + | — | + |
| 13(*) | 3 cc. | peito | 123 dias | — | ++ | ++ | — | ++ |
| 17(*) | 3 cc. | peito | 112 dias | + | + | ++ | + | +++ |
| 18(*) | 3 cc. | peito | 123 dias | — | — | — | — | — |
| 14 | 1 cc. | venosa | 7 dias | + | ++ | ++ | + | — |
| 19 | 1 cc. | venosa | 30 dias | — | ++ | ++ | — | — |

*) Pombos inoculados três vezes com intervalo de 30 dias.

De qualquer modo, tanto os pintos como os pombos jovens, talvez se prestem para experiências com material de lepra murina e humana. Como a idade do animal muitas vezes tem influência sôbre a suscetibilidade, será interessante trabalhar com animais jovens e adultos afim de fazer um estudo comparativo.

## DISCUSSÃO

Pela revisão feita sôbre as vias de infecção dos ratos, verificamos que são múltiplos os modos de contaminação por processos naturais e artificiais.

Na natureza, dois nos parecem ser os modos mais prováveis de infecção. O primeiro, como na lepra humana, pelo contacto íntimo e prolongado com animal leproso. Junta-se a isso o fato de escoriações frequentes nos ratos, muitas vezes produzidas por lutas, tão comuns entre os roedores. As soluções de continuidade viriam tornar possível a penetração dos bacilos. E' verdade que a fórma músculo cutânea da doença de Stefansky é muito mais rara que a fórma ganglionar e nesta última a transmissão da infecção deve ser mais difícil. Entretanto, o número de ratos leprosos é geralmente muito pequeno em relação ao total de examinados. Tal fato vem demonstrar que a transmissão é difícil; provavelmente para o caso do contacto direto, só a forma músculo cutânea é contagiante, ao passo que a modalidade ganglionar é uma forma fechada de pouco perigo para os outros ratos.

Um segundo processo de transmissão se daria por via gástrica. Ratos esfomeados devoram muitas vezes os que morreram, podendo assim contaminar-se. A transmissão por mordeduras nos parece pouco provável. As glândulas salivares em geral não são atingidas (39), quando tal fato se dá, observam-se células isoladas contendo bacilos no tecido conjuntivo interlobular, mas nunca são encontrados bacilos nas células glandulares. Êsses casos, porém, são os muito adiantados em que há grande enfartamente dos gânglios maxilares ou tumores de lepra murina na região do pescoço. Pela raridade do processo, pelo estado muito adiantado da infecção e ainda mais, por não ter sido provada a presença de bacilos na saliva, a transmissão por mordidas não nos parece provável. E' possível, porém, que um rato sadio mordendo um outro infectado numa região muito atingida venha a se infectar através da mucosa bucal.

A transmissão por artrópodos é uma questão aberta. Tem-se admitido muito e provado pouco. E' preciso ter sempre em mente que a presença de bacilos dentro destes animais não tem significado algum como demonstração de seu poder transmissor. Em várias doenças, tanto de virus como de bactérias, teem sido encontrados bacilos ou virus dentro do corpo de vários artró-

podos que, no entanto, não transmitem a infecção. Como simples transportador de microorganismos nas partes externas, como patas e probóscida, podem ocasionalmente depositar os bacilos sôbre um rato normal com uma solução de continuidade e assim infectá-los; este fato se pode dar, porém é sem grande interesse do ponto de vista da transmissão pois Marchoux (46) verificou que os bacilos morrem rapidamente por dissecação. Seria um processo puramente acidental sem maior significado. Ademais, a hipótese da transmissão da lepra murina por um artrópodo picador, que levasse os bacilos de um para outro animal é logicamente muito pouco provável, principalmente se se pensasse em um inseto que fosse provido de asas. Aí, ao invés de existirem apenas casos esporádicos da doença, haveria epizootias maciças, coisa que jamais foi observada em parte alguma do mundo. As experiências mostram que os parasitos mais frequentes dos ratos, isto é, sarcoptes, pulgas, piolhos e ácaros, quando capturados em animais doentes e colocados em outros sadios, são incapazes de transmitir a infecção. Esses artrópodos, que às vezes conteem muitos bacilos, podem ser devorados pelos ratos sadios produzindo infecção, o que seria porém um processo muito raro. Naturalmente, tem sido conseguida a infecção após trituração de artrópodos colhidos em animais doentes e inoculados em ratos sadios. Isto prova apenas a presença de bacilos vivos, mas não tem significado algum se se quer provar a transmissão.

A transmissão congênita parece-nos muito pouco provável. O que se pode dar é os filhos de ratos com ulcerações leprosas virem a se contaminar quer através da pele, com alguma escarificação, quer através das mucosas como a conjuntiva, a mucosa bucal ou talvez mesmo pela mucosa nasal.

Por inoculação de material leproso é fácil a produção de infecção experimental. A via subsutânea é usada com mais freqüência. Em nossas experiências temos empregado quase que exclusivamente esta via, fazendo inoculações na região axilar. Os resultados mostram porcetangem muito elevada de infecção não só para o material proveniente de Londres, como também para o material de lepra murina oriundo de ratos capturados na cidade do Rio de Janeiro (38). Mais de cem ratos já foram infectados com êste material, o qual se tem mostrado, seja pelas alterações macroscópicas produzidas, seja pelas lesões histopatológicas observadas, idênticas ao das outras partes do mundo (39).

As inoculações por via intraperitoneal também teem sido usadas com freqüência e os resultados obtidos são semelhantes aos da via subcutânea.

Tôdas as demais vias são muito menos empregadas, mas se tem conseguido infecção por qualquer uma delas.

Essa questão de via de inoculação talvez tenha maior importância para os animais pouco suscetíveis.

Provavelmente, tôda a família *Murinae*, ou dos ratos propriamente ditos, apresenta suscetibilidade à lepra murina em maior ou menor grau, conforme o gênero ou quiçá a espécie. Os ratos não apresentam de igual modo sensibilidade à infecção; de todos, o *Rattus norvegicus* é o mais suscetivel. A infecção em gambá com lepra murina foi obtida por nós. Provavelmente as gambás são mais suscetíveis à lepra dos ratos que à lepra humana. Aliás nós mesmo inoculámos gambás com emulsão de leproma do homem, riquíssimo em bacilos ácido álcool resistente e os resultados obtidos foram completamente negativos.

Em galinhas, frangos, pintos e pombos, se bem que a infecção possa se dar, as lesões nunca são tão extensas, tão disseminadas e tão numerosas como nos ratos. Pensamos que talvez a idade e os regimes alimentares tenham influência sôbre a expansão da infecção.

## SUMÁRIO E CONCLUSÕES

1) O A. revê as vias de infecção naturais e os processos de inoculações empregados em ratos, no estudo da lepra murina.
2) Na natureza, o contacto prolongado de animal sadio com doente e a infecção por via gástrica devem ser os modos comuns de contaminação.
3) Foram encontrados dentro do *Polyplax spinulosa* (Burmeister) capturados em ratos leprosos, bacilos ácido álcool resistentes. Tentativas de cultura com êste material, foram infrutíferas.
4) O A. infectou ratos colocando no estômago, por meio de sondas de vidro, material leproso. Em cinco animais, todos se infectaram.
5) Por via subcutânea e por via intraperitoneal, a infecção se processa em quase 100 % dos casos.
6) Foi possível infectar gambás (*Didelphis aurita*) com lepra murina. Êsses animais provavelmente são mais suscetíveis à lepra dos ratos que à humana.
7) Conseguiu-se infectar pintos por inoculação de emulsão de lepra murina no músculo do peito, por via intraperitoneal e por via gástrica.
8) Pombos também se infectaram após inoculação no músculo do peito e por via venosa.

## SUMMARY AND CONCLUSIONS

1) The A. reviews the routes of natural transmission of rat leprosy and the experimentally induced disease.

2) The infection in the natural disease must be made by contact with an infected rat or through the gastro-intestinal route by eating infected tissue.

3) They were found acid-fast bacilli in lice (*Polyplax spinulosa*) caught on rats dying of leprosy; but it was impossible to obtain cultures in Löwenstein medium, from these lice.

4) Rat leprosy emulsion introduced into the stomach, may infect rats. Five rats fed with infected material became infected.

5) After subcutaneous or intraperitoneal inoculation there were obtained infection in almost 100 % of cases.

6) It was possible to infect *Didelphis aurita* after inoculation of infected rat material. These animals most likely are more susceptible to rat leprosy than to human leprosy.

7) It was possible to infect chicks by inoculation in chest muscle, by intraperitoneal injection and by gastrointestinal route.

8) It was possible to infect pigeon by inoculation in chest muscle and by intravenous inoculation.

## BIBLIOGRAFIA

1. ALEXANDRESCU, J.
1908. Lepra Sobolanilor-Tese de Jasi.

2. ARAGÃO, H. B. E PENIDO, J. C.
1935. Tentativas de inoculação da lepra humana em didelphídeos. Brasil Médico, 49: 267.

3. BADGER, L. F. E SEBRELL, W. H.
1935. The effect of a vitamina B1 deficient diet on the incubation period of the rat. Pub. Health Rep., 50 : 855.

4. BALFOUR-JONES, S. E. B.
1937. The experimental transmission of rat leprosy to the golden Hamster (*Cricetus auratus*). Jr. Path. and Bact., 45 : 739.

5. BERNARD, P.
1934. Localisation des bacilles de Stefanky injectés dans le veine du rat. Bull. Soc. Path. Exot., 27 : 117.

6. BERNY, P.
1934. Echec de la transmission aux lapins et aux cobayes des bacilles de la lèpre des rats. Bull. Soc. Path. Exot., 27 : 717.

7. BERNY, P.

1935. Conservation de la vitalité du bacille de Stefansky chez le cobaye. Bull. Soc. Path. Exot., 28 : 5.

8. BERNY, P. E TANGUY, Y.

1938. Conservation de la vitalité du bacille de Stefansky chez le cobaye. Bull. Soc. Path. Exot., 31 : 40.

9. BOYÉ.

1931. Sur une maladie de la sirigue de Guyanne presentant de grandes analogies avec la lèpre humaine. Bull. Soc. Path. Exot., 24 : 637.

10. BURNET, E.

1938. Examen de qualques reactions d'immunité et d'allergie dans la lèpre murine. Arch. Inst. Pasteur de Tunis, 27 : 360.

11. BURNET, E.

1940. Essais d'inoculation des bacilles lepreux, b. de Stefansky, b. de Hansen, sur le pulmon par l'instillation dans les narines. Arch. Inst. Pasteur de Tunis, 29 : 174.

12. CHABAUD, A.

1939. Evolution sur le souris de quatre souches de lèpre du rat. Bull. Soc. Path. Exot., 32 : 195.

13. CHAUCHARD, B. e CHORINE, V.

1936. Modifications de l'excitabilité nerveuse dans da lèpre des rats. Bull. Acad. Med. Paris, 115 : 954.

14. CHORINE, V. e BERNY, P.

1937. Infection genitale des rats avec bacille de Stefansky. Internat. Jr. Leprosy, 5 : 309.

15. CHORINE, V., GUILLINY, R. e MONTESTRUC, E.

1934. Inoculation de bacilles de Stefanky dans la chambre anterieure de l'oeil du rat. Compt. Rend. Soc. Biol., 116 : 1.261.

16. CURRIE, D. e HOLLMANN, H. T.

1910. A contribution to the study of rat leprosy. Pub. Health Bull. n. 41.

17. CURRIE, D. e HOLLMANN, H. T.

1911. Further observation in rat leprosy. Pub. Health Bull. n. 50.

18. DEAN, G.

1905. Further observation on a leprosy like disease of the rat. Jr. Hyg., 5 : 99.

19. DEMANDEZ, M. L.

1935. Recherches sur la lèpre murine et le bacille Duval 514. Ann. Soc. Belge de med. trop., 15 : 31.

20. FUKAMACHI, T.

1927. Application of rat leprosy to the study of therapy of human leprosy. Pathological and histological study of rat leprosy. Nippon no Ikai, 17 : 46.

21. GAVRILOV, W., DUBOIS, A. e FESTER.

1938. L'infection experimentale du rat par le bacille de Stefansky observée en Belgique. Inst. Jr. of. Leprosy, 6 : 515.

22. GAVRILOV, W., DUBOIS, A. e FESTER.

1939. Influence de l'avitaminose sur l'infection des cobayes par le bacille de Stefansky. Ann. Soc. Belge de Med. Trop., 19 : 361.

23. GRALL, A.

1937. Le blocage du système reticulo-endothelial dans la lèpre murine. Bull. Soc. Path. Exot., 30 : 636.

24. GUILLINY, R. e MONTESTRUC, E.

1933. Étude sur la lèpre oculaire murine. Bull. Soc. Path. Exot., 26 : 901.

25. HATTA, S.

1938. Experimental study on the heredity of leprous disposition by means of rat leprosy. La Lepro, 8 : 57.

26. HAYASHI, F. e NAGAI, T.

1940. Menschen-und Rattenlepraknoten, eingebracht in die Muskeln von Hühnern. La Lepro, 11 : 47.

27. HENDERSON, J. M.

1928. A contribution to the pathology of cutaneous rat leprosy. Indian J. Med. Res., 16 : 1.

28. ICHIHARA, T.

1936. Rat-mites (Laelaps nezumi kishida, 1915) as the transmitter of rat leprosy. La Lepro, 7 : 33.

29. JORDAN, P.

1934. Notas preliminares sôbe o "Gambá" como animal de experiência para lepra. Pesquisa de bacilos ácido álcool resistentes nos animais sãos. Folia Clínica et Biologica de S. Paulo, 6 : 85.

30. KAWAMURA, M. e UCHIDA, M.

1933. Relation between the vaccinal quantity of the bacilli and its affections of the rat leprosy. La Lepro, 4 : 5.

31. LAIGRET, J.

1933. Reproduction de la lèpre murine chez de cobaye et chéz de lapin traités par un extrait acétonique du bacille tuberculeux. Compt. Rend. Acad. Sc.. 197: 1.468.

32. LAMPE, P. H. J.

1936. Modder-lepra by witte ratten — "Handelingen v/h 7 de Ned. Ind. Natuurwetenschappelyk, Congress ; 389-393 (Atas do 7.° Congresso de Ciências naturaes da Índia Holandesa) Impresso : Batávia 1936.

33. LAMPE, P. H. J. e LOBEL, L. W. M.

1938. Rattenlepra : Experimenteele contact en voedingsinfectie van witte ratten. Geneesk. tydschr. v. Nederl.-Indië, 78 : 179.

34. LAMPE, P. H. J.e MOOR, C. E. J.

1935. Rattenlepra. Geneesk, tydschr. v. Nederl-Indië, 75 : 2.033.

35. LAMPE, P. H. J., MOOR, C. E. J. e VAN VEEN, A. G.

1936. Modderlepra van witte ratten. Geneesk. tydschr. v. Nederl.-Indië, 76 : 2.204.

36. LAMPE, P. H. J., MOOR, C. E. J. e VAN VEEN, A. C.

1936. Modderlepra. Geneesk. Tydschr. v. Nederl.-Indië, 78 : 523.

37. LE GUYON, R.

1931. Sur l'etiologie de la lèpre des rats. Allaitement croisé par des mère saine de jeunes rats issus des mère lepreuses et inversement. Compt. Rend. Soc. Biol., 108 : 792.

38. LINHARES, H.

1942. Verificação da lepra murina na cidade do Rio de Janeiro. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 37 (3) : 353.

39. LINHARES, H.

1942. Contribuição ao estudo da patologia da lepra murina. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 37 (4) : 543.

40. LOWE, J.

1934. Studies in rat leprosy. Indian Jr. Med. Res., 22 : 187.

41. LOWE, J.

1937. Rat leprosy. Internat. Jr. of Leprosy, 5 : 311.

42. LYON, M.

1939. Le rat ne rèagit pas a la leproline de Mitsuda. Bull. Soc. Path. Exot., 32 : 134.

43. MARCHOUX, E.

1911-12. Human leprosy and rat leprosy ; a discussion of their respective problems. Tr. Soc. Trop. Med. & Hyg. 5 : 184.

44. MARCHOUX, E.

1914. La lèpre des rats. La Prèsse Medicale, 22 : 201.

45. MARCHOUX, E.

1914. La prophylaxie de la lèpre. Ann. d'Hyg. publ. et med. legale, 21 : 142.

46. MARCHOUX, E.

1916. Transmission de la lèpre par les mouches (Musca domestica). Ann. Inst. Pasteur, 30 : 61.

47. MARCHOUX, E.

1923. La lèpre du rat et de l'homme. 3.ª Conf. Intern. de lepra, Strasburgo.

48. MARCHOUX, E. e CHORINE, V.

1936. La sensibilité au virus lèpreux n'est pas plus grande chez les jeunes que chez les adultes. Ann. Inst. Pasteur, 57 : 583.

49. MARCHOUX, E. e CHORINE, V.

1937. Infection des rats avec le bacille de Stefansky par la voie digestive. Bull. Soc. Path. Exot., 30 : 268.

50. MARCHOUX, E. e CHORINE, V.

1938. Cinq bacilles de Stefansky suffisent pour infecter le rat blanc. Ann. Inst. Pasteur, 61 : 296.

51. MARCHOUX, E. e CHORINE, V.

1938. La muqueuse rectale est permeable au bacille de Stefansky. Bull. Soc. Path. Exot., 31 : 462.

52. MARCHOUX, E. e CHORINE, V.

1938. Permeabilité de la muqueuse buccale du rat au bacille de Stefansky. Bull. Soc. Path. Exot., 31 : 580.

53. MARCHOUX, E. e CHORINE, V.

1938. Voies de pénétration des germes de la lèpre dans l'organisme. Bull. Soc. Path. Exot., 31 : 796.

54. MARCHOUX, E. e CHORINE, V.

1938. Le phénomène de Koch ne se produit pas chez le rat par reinoculation du bacille de Stefansky. Bull. Soc. Path. Exot., 31 : 809.

55. MARCHOUX, E. e CHORINE, V.

1939. Transmission de la lèpre par les poux et par le laelaps. Bull. Soc. Path. Exot., 32 : 477.

56. MARCHOUX, E. e CHORINE, V.

1939. Mode de pènètration des bacilles de Stefansky au travers de la peau fraichement épilée. Ann. Inst. Pasteur, 63 : 101.

57. MARCHOUX, E. CHORINE, V. e KOECHLIN, D.

1935. Infection lèpreuse des rats par la voie oculaire. Ann. Inst. Pasteur, 55 : 632.

58. MARCHOUX, E. CHORINE, V. e KOECHLIN, D.

1937. Le bacille de la lèpre et le système nerveux. Ann. Inst. Pasteur, 59 : 549.

59. MARCHOUX, E. e SOREL, F.

1912. Lèpre des rats : Inoculation experimentale. Compt. rend. Soc. Biol., 72 : 269.

60. MARCHOUX, E. e SOREL, F.

1912. Lè des rats : Recherches etiologiques. Ann. Inst. Pasteur, 26 : 778.

61. MARKIANOS, J.

1929. Le rôle des poux dans la transmission de la lèpre. Bull. Soc. Path. Exot., 22 : 633.

62. MAZZA, S.

1924. Phagocitose des bacilles de Stefansky dans le peritoine des rats et des cobayes. Bull. Soc. Path. Exot., 17 : 208.

63. MC COY, G. W.

1908. Leprosy-like disease in Rats. Pub. Health Rep., 23 : 982.

64. MUIR, E. e HENDERSON, J. M.

1928. Rat leprosy. Indian Jr. Med. Res., 15 : 807.

65. NAKAMURA, K.

1938. Studien über die Pathogenese lepröser Ratten und ihrer Nachkommenschaft. La Lepro, 9 : 58.

66. NONAKA, N.

1939. Das Verhalten von Hühnern gegen Aufschwemmung von Menschen und Rattenlepragewebe sowie gegen nicht pathogene säurefeste Bacillen. La Lepro, 10 : 140.

67. NONAKA, N.

1940. Studies on the Infection of Chickens with leprosy. Kitasato Arch. Exper. Med., 17 : 175.

68. OHTAWARA, T. e ICHIHARA, T.

1932. Studium der Lepra : Statistiche Betrachtung der Rattenlepra. Zentralbl. f. Bact. Origin, 123 : 495.

69. OHTAWARA, T., ICHIARA, S. e SUZUKI, K.

1939. Verhalten der Rattenleprabazillen in Körper von Tieren die für diese Bacillen unempfindlch sind. La Lepro, 10 : 72.

70. OTA, M.

1939. Über Impfversuche der menschlichen und Rattenlepra auf Tiere. Haushühner und Vögel. La Lepro, 10 : 27.

71. OTA, M. e SATO, S.

1937. Impfversuche von menschlichen und Rattenlepra beim Huhn. La Lepro, 8 : 67.

72. OTA, M. e SATO, S.

1937. Impfversuche von menschlichen und Rattenlepramaterial an Hähner Jap. Jr. Dermat. Urol., 42 : 135.

73. OTA, M. e SATO, S.

1940. Rattenlepramaterial intramuskulär inokulierten Hühnern. Jap. Jr. Dermat. Urol., 47 : 41.

74. OTA, M. e SATO, S.

1940. Inoculation Experiments of Human and Rat Leprosy in the Hen. Intern. Jr. Leprosy, 8 : 81.

75. PAPAIOANNU, A.

1938. Recherches sur la culture et la transmission experimentale à des animaux de laboratoire, du bacille lepreux humain et du bacille de Stefansky. Bull. Soc. Path. Exot., 31 : 582.

76. SATO, M.

1937. Rattenlepra : Übertragung auf Tiere. Jap. Jr. Dermat. Urol., 42 : 149.

77. SATO, M.

1938. Impfversuche der Rattenlepra auf Huhn. La Lepro, 9 : 56.

78. SATO, M. e NAKANO, J.

1939. Versuche mit Überimpfung von menschlicher und Rattenlepra auf Vögel. La Lepro, 10 : 1.

79. SCHLOSSBERGER, H. e KOCH, F.

1932. Experimentelle untersuchungen über die Übertragung der Rattenlepra auf Meerschweinchen und weisse Mäuse. Srpski Arch. Lekarst, 34 : 364.

80. SELLARDS, A. W. e PINKERTON, H.

1936. Resumé d'experiences sur la propagation de la lèpre murine et humaine à des animaux considérés comme refractaires. Bull. Soc. Path. Exot., 29 : 847.

81. SELLARDS, A. W. e PINKERTON, H.

1938. Behavior of murine and human leprosy in foreign hosts. Am. Jr. Path., 14 : 421.

82. SOUZA ARAUJO, H. C.

1938. A lepra dos ratos. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 33 : 297.

83. STEFANSKY, W.

1903. Eine lepraähnliche Erkrankung der Haut und der Lymphdrüsen bei Wanderratten. Centralb. f. Bakt., 33 : 481.

84. UCHIDA, M.

1922. Reports on the experimental rat leprosy. Saikingaku Zasshi, n. 323.

85. UCHIDA, M.

1923. On the route of infection of rat leprosy. Saikingaku Zasshi, n. 329.

86. UCHIDA, M.

1933. The experimental study on the relation between various nutriments and the leprous affections. (I. Report.). La Lepro, 4 : 13.

87. UCHIDA, M.

1935. On the influence of various vitamins on morbide changes (II. Rep.) La Lepro, 6 : 7.

88. URABE, K.

1939. On the susceptibility on *Eutamia asiaticus orientalis* with *Mycobacterium leprae muris*. La Lepro 10 (Sup. 68).

89. WALKER, E. L.

1929. Some new aspects of the etiology and endemiology of leprosy. Jr. Prev. Med., 3 : 167.

90. WALKER, E. L. e SWEENEY, M. A.

1929. The identity of human leprosy and rat leprosy. Jr. Prev. Med., 3 : 325.

91. WATANABE, Y.

1934. Experimental studies on the lepra bacillus. Inoculation test with the bacillus of rat leprosy. Kitasato Arch. Exper. Med., 11 : 259.

92. WATANABE, Y.

1936. Experimental studies on animals concerning leprosy. Experiments on inheritance of predisposition for leprosy rat. Kitasato Arch. Exper. Med., 13 : 66.

93. WATANABE, Y.

1936. Experimental studies on animals concerning leprosy. Inoculation tests with rat leprosy. Kitasato Arch. Exper. Med., 13 : 158.

94. WATANABE, Y.

1937. On the influence of inoculation with heated emulsion of rat leprosy tissue on the growth of rat leprosy. Kitasato Arch. Exper. Med., 14 : 125.

95. WATANABE, Y. e NONAKA, N.

1937. Experimental studies on chickens concerning leprosy. Tokyo Izi Sinsi, n. 3.042; e 1938 — Kitasato Arch. Exper. Med., 15 : 40.

96. WATANABE, Y. e NONAKA, N.

1939. Experimentelle Leprastudie mit den Huhn. La Lepro, 10 : 66.

97. WAYSON, N. E.

Citado por Lowe (41).

98. WAYSON, N. E. e MASUNAGA, E.

1935. Rat leprosy: Observations concerning transmission of the infection through the nose. Pub. Health Rep., 50 : 1.576.

99. WHERRY, W. B.

1908. Further notes on rat leprosy and on the fate of human and rat lepra bacilli in flies. Pub. Health Rep., 23 : 41 ; e 1908 — Jr. Infect. Dis., 5 : 507.

100. WHERRY, W. B.

1909. Experiments on the vaccination against rat leprosy. Rat lepra bacilli in the rat louse. Jr. Infect. Dis., 6 : 630.

101. YAMAMOTO, M.

1939. Über Lungenveränderungen bei Mäusen, weissen Ratten und Hühnern. La Lepro, 10 : 7.

# Aspectos parasitários observados no local inoculado com esporozoitos de Plasmodium Gallinaceum (*)

(Nota preliminar)

por

Lobato Paraense

(Divisão de Estudos de Endemias)

(Com 1 estampa colorida)

Uma das questões de malariologia cuja solução vem sendo há muito procurada, é a que se refere ao destino imediato do esporozoito quando posto em contacto com os tecidos do hospedeiro vertebrado pela picada do mosquito.

As diferenças de aspecto existentes entre os esporozoitos e os esquizontes jovens das hemátias levaram Grassi (1901) a negar que os primeiros esquizontes a invadirem o sangue derivassem diretamente dos esporozoitos. Segundo Grassi, os esporozoitos inoculados pelo mosquito multiplicar-se-iam no organismo humano, dando origem a uma geração dotada de caracteres particulares que estaria relacionada com o início da incubação. Observando-se o esquema desse autor compreende-se que êle, ao escrever a sua monografia sobre a malária, duvidava que os esporozoitos fossem dotados de capacidade infectante para as hemátias. Esta propriedade surgiria com a geração derivada dos esporozoitos, já no fim da incubação, aparecendo então os primeiros glóbulos vermelhos parasitados.

Antes de ser conhecido o trabalho de Schaudinn (1903) sobre o *Plasmodium vivax,* outros pesquisadores tinham feito tentativas improfícuas para observar a penetração dos esporozoitos da malária nos glóbulos vermelhos. No referido trabalho é descrita essa penetração de maneira tão detalhada que parece não haver dúvida quanto à realidade do fenômeno. Entretanto, por motivos inexplicáveis, essa experiência nunca mais poude ser reproduzida, mesmo por pesquisadores que seguiram à risca a técnica original.

Em 1931 James, comentando as diferenças observadas na prática da malarioterapia entre os casos infectados por inoculação de sangue e aqueles infectados por picada de mosquitos, relativamente à eficácia da quinina e à in-

* Recebido para publicação a 1 de abril e dado à publicidade em junho de 1943.

cidência das recaidas, emitiu duas hipóteses para a explicação dessas diferenças. Uma delas foi a seguinte: os esporozoitos, em vez de entrarem nos glóbulos vermelhos, penetrariam nas células do tecido conjuntivo ou nas que revestem os capilares sanguíneos, aí permanecendo até à rotura destas células, alguns mêses depois.

Efetivamente, poucos anos mais tarde começaram a ser evidenciados aspectos parasitários até então desconhecidos, consistindo em esquizogonias desprovidas de pigmento, localizadas no interior de células do sistema reticuloendotelial, em casos de malária com infecção sanguínea comprovada. Estudos posteriores demonstraram que estas esquizogonias apigmentadas pertenciam ao ciclo evolutivo dos plasmódios (ciclo exoeritrocitário).

Atualmente podem-se contar algumas centenas de trabalhos escritos sobre o assunto, mas, não obstante o grande número de pesquisas já realizadas a respeito, ainda aguardam solução inúmeros problemas levantados pela nova descoberta.

Um desses problemas relaciona-se com o momento em que surgem as formas exoeritrocitárias no decurso da infecção malárica. Para certos autores o esporozoito, uma vez inoculado, realiza imediatamente a esquizogonia exoeritrocitária (fase monogônica primária). Para outros o ciclo exoeritrocitário só se realiza depois de estabelecida a infecção sanguínea.

Com o fito de contribuir para o esclarecimento dessa questão, iniciei há algum tempo uma série de pesquisas, tentando observar o comportamento dos esporozoitos em cultura de baço embrionário (1942). Foram colocados esporozoitos de *Plasmodium gallinaceum* em contacto com fragmentos de baço de embriões de galinha cultivados segundo o método de Carrel em gota pendente. As experiências foram repetidas numerosas vezes, não tendo sido possivel observar qualquer sinal de evolução dos esporozoitos, fora ou dentro das células esplênicas.

Em vista do insucesso dessas experiências decidi valer-me de outro método, cujas condições fossem as mais próximas possível das naturais. Assim consegui os resultados que serão relatados nesta nota.

As pesquisas tiveram início há um ano, porém fui obrigado a interrompê-las durante os sete últimos meses por motivo irremovível, o que me impede talvez de trazer uma contribuição mais completa. Entretanto, os trabalhos serão logo retomados e espero poder brevemente publicar resultados definitivos.

*

* *

Tenho utilizado nestas pesquisas o *Plasmodium gallinaceum*, inoculando-o no estádio de esporozoito em pintos normais.

Inicialmente são alimentados grandes lotes de mosquitos *Aedes ægypti* (criados no laboratório) em frangos portadores de numerosos gametocitos maduros. Depois do repasto infectante os mosquitos são alimentados com xarope simples, até aparecerem esporozoitos nas glândulas salivares, o que geralmente ocorre a partir do 10.º dia. Então é feita a inoculação em pintos normais, conservados ao abrigo de hematófagos.

Em alguns casos a inoculação é feita por injeção subcutânea de triturado das glândulas salivares, em água fisiológica. A retirada das glândulas é feita em temperatura ambiente, e o contacto dos esporozoitos com a solução fisiológica é de curta duração (cerca de 5 minutos), apenas o suficiente para serem isolados e triturados cinco pares de glândulas infectadas.

Outras vezes os pintos são sujeitos à picada, no mesmo local, de 10 mosquitos infectados. Estes últimos sugam até ficarem completamente cheios, e são examinados imediatamente depois de se alimentarem afim de ser indagada a capacidade infectante.

Depois das picadas ou da injeção de esporozoitos o local da inoculação é assinalado por um círculo de tinta negra "nankim".

Transcorrido determinado período de tempo é feita a excisão da pele do local inoculado, compreendendo o epiderme e o derme subjacente. O retalho assim obtido é esticado sobre um pedaço de papel de filtro, ao qual adere pela face epitelial. O derme é então raspado com uma pequena cureta. O produto da raspagem, constituido por elemento do tecido conjuntivo e células epiteliais das camadas profundas, é espalhado sobre lâminas, fixado pelo álcool metílico e corado pelo método de Giemsa. A observação dos preparados é feita com objetiva forte de imersão.

O material até agora examinado consta de biópsias feitas a partir de seis horas após a inoculação, até 48 horas depois do aparecimento da infecção sanguínea.

Nos preparados correspondentes às primeiras horas do período de incubação, teem sido encontrados elementos que suponho pertencerem à evolução dos esporozoitos. Entretanto não pude ainda observar estadios de transição entre os esporozoitos e os referidos elementos, por falta de material apropriado, isto é, retirado logo após a inoculação e daí por diante dentro das primeiras seis horas. Porisso não me ocuparei ainda nesta nota desses elementos, referindo-me apenas ligeiramente a êles, só o fazendo com detalhe quando observações posteriores esclarecerem sem nenhuma dúvida a sua verdadeira natureza. Por enquanto limitar-me-ei a assinalar o encontro de formas nìtidamente definidas, apresentando todos os caracteres dos esquizontes do ciclo exoeritrocitário e localizadas no protoplasma de células do retículo-endotelio subcutâneo.

1. Preparados de seis e 12 horas. No primeiro foram vistos os elementos duvidosos acima referidos, em grande abundância, parecendo proporcional ao número elevado de esporozoitos injetados. São formações alongadas, com oito e mais grânulos de cromatina dispostos em fila como num rosário. No último preparado esses elementos eram sensìvelmente menos abundantes.

2. De 18 horas. Foi visto apenas um preparado, no qual apareceu um elemento binucleado com os caracteres reproduzidos na fig. 1. Os dois grãos de cromatina eram bastante volumosos, apresentando textura nuclear muito nítida. O protoplasma era azul intenso, mais ou menos hialino. Os limites deste elemento eram bem demarcados por um estreito vacúolo.

3. De 24 horas. No único preparado examinado foi visto um elemento semelhante ao descrito no parágrafo anterior (fig. 2).

4. De 60 horas. A partir deste prazo os esquizontes exoeritrocitários mostraram-se mais frequentes. No presente preparado foram vistos vários deles, sem mais o vacúolo até então assinalado (fig. 3).

5. De 84 horas. Aqui eram muito frequentes as células parasitadas por oito e mais esquizontes. Não parecia tratar-se de elementos em divisão, conforme pode ser visto na fig. 4. A partir deste prazo apareceram constantemente no protoplasma dos esquizontes e tambem sobre o núcleo pequenas granulações violáceas semelhantes aos grãos de volutina. Posso afirmar com segurança que não se trata de hemozoina.

Em todos os casos que acabo de enumerar não foi encontrado qualquer vestígio de infecção sanguínea em numerosos exames de sangue periférico ou contido nos órgãos. Tambem não foram vistos parasitos exoeritrocitários nas vísceras. As observações foram feitas, portanto, rigorosamente dentro do período de incubação da malária.

Posteriormente, foram pesquisadas esquizogonias exoeritrocitárias no local da inoculação em três casos, respectivamente 1, 24 e 48 horas depois do aparecimento dos primeiros parasitos sanguíneos, isto é, logo após o fim do período de incubação. Estas esquizogonias apareceram com grande frequência em todos os casos, parecendo que o seu número diminuia à medida que progredia a infecção do sangue. Em muitas delas foram vistas as granulações violáceas já referidas. O aspecto da cromatina desses parasitos e a colorabilidade do seu protoplasma diferem de elemento para elemento, o que sem dúvida correspondente ao estadio evolutivo em que se encontra cada um dêstes. Essa diversidade de aspecto pode ser frequentemente observada nos parasitos de uma mesma célula hospedeira (fi. 5).

As observações testemunhas foram feitas em fragmentos de pele retirados de outras regiões dos próprios animais inoculados e de aves normais que não receberam qualquer tratamento. Só foram encontrados aspectos normais.

Todos esses achados servem de apôio à idéia de que as formas exoeritrocitárias constituem o élo de ligação entre os esporozoitos e os parasitos pigmentados dos glóbulos vermelhos. Quanto à sua permanência no organismo depois da eclosão da infecção sanguínea e ao seu aparecimento em casos infectados por inoculação de sangue, são assuntos cuja discussão escapa à natureza da presente nota.

Em trabalho mais completo, que será publicado oportunamente, relatarei as futuras observações a serem feitas em muito maior escala. Espero obter assim maior número de dados sobre as primeiras fases evolutivas do esporozoito no organismo do hospedeiro vertebrado e então compararei os meus resultados com os dos raros pesquisadores que se teem ocupado do assunto.

## SUMMARY

The following is a summary of the studies made on the development of *Plasmodium gallinaceum* sporozoites inoculated into normal chicks.

Initially large numbers of laboratory reared *Aëdes ægypti* were fed on pullets heavily infected with gametocytes. Following the infectious meal the mosquitoes were kept on a diet of sugar and water syrup until the appearance of the sporozoites in the salivary glands.

Normal chicks kept in hematophagous arthropod proof cages were then inoculated either by bite of the infected mosquitoes or by subcutaneous inoculations of salivary gland suspensions. By the first method ten mosquitoes fed to engorgement on each normal chick and were then sacrificed immediately afterwards to determine the sporozoite count. By the second method five pairs of salivary glands were dissected out at room temperature, triturated in physiological saline and inoculated subcutaneously.

The epidermis and dermis at the site of inoculation were excised from six hours after inoculation to forty eight hours after appearance of the parasites in the blood stream and stretched out on filter paper with the epithelial surface downward. The dermis was then curretted. Slides were made of the scrapings consisting of connective tissue and epithelial cells of the basal layers which were fixed by metyl alcohol and stained with Giemsa for examination under the oil immersion lens.

Skin fragments removed from normal chicks and from regions other than the site of inoculation in the infected chicks were used as controls. In these, only the normal histological aspect was ever encountered.

In the biopsy made at the earliest period following inoculation clearly defined elongated forms with eight or more chromatin granules arranged in rosary formation were found. The author believes these to be products of the sporozoite evolution. Search for transition stages between these forms and sporozoites is planned in biopsies to be taken immediately following inoculation and at given intervals up to the six hour period.

1.) 6 and 12 hour periods. The bodies referred to above found in the first period in great abundance, apparently in proportion to the large numbers of sporozoites inoculated, were perceptibly reduced in numbers in the second period.

2.) 18 hour period. Only one biopsy was examined. This presented a binuclear body shown in Fig. 1, having a more or less hyaline protoplasm staining an intense blue and a narrow vacuole delimiting the cell boundaries. The two chromatin grains were quite large presenting a clearly defined nuclear texture.

3.) 24 hour period. A similar body to that above (Fig. 2) was seen in the only preparation examined.

4.) 60 hour period. The exoerythrocytic schizonts were found more frequently from this period onward. Several such were found no longer to contain the previously described vacuoles (Fig. 3).

5.) 84 hour period. Cells bearing eight or more schizonts were frequently encountered here. That these are apparently not bodies in process of division may be seen in Fig. 4. From this time onward small violet granules similar to volutine grains appeared constantly in the schizont nucleus and protoplasm. These are definitely not hemozoin.

The above observations fell within the incubation period as repeated examinations of the peripheral and visceral blood were negative. Exoerythrocytic parasites also were never encountered in the viscera at this time.

Exoerythrocytic schizonts searched for at site of inoculation 1, 24 and 48 hours after the incubation period were present in large number at all three times with apparent tendency to diminish as the number within the blood stream increased. Many of them presented the violet granules mentioned above. The appearance of the chromatin and the intensity of staining of the protoplasm varied from body to body which doubtless corresponds to the evolutionary stage of each. This diversity of aspect may frequently be seen in the parasites of the same host cell (Fig. 5.).

These findings lend substance to the theory that the exoerythrocytic forms are the link between the sporozoites and the pigmented parasites of the

red blood corpuscles. The explanation of their continued presence in the organism after infection of the blood stream takes place and their presence in cases infected by the inoculation blood does not come within the scope of this work.

Large scale observations shortly to be undertaken will be reported in more detail particularly observations on the first evolutionary phases of the sporozoite within the organism of the vertebrate host.

## REFERENCIAS

Grassi, B.

1901. Die Malaria. Studien eines Zoologen. Jena.

James, S. P.

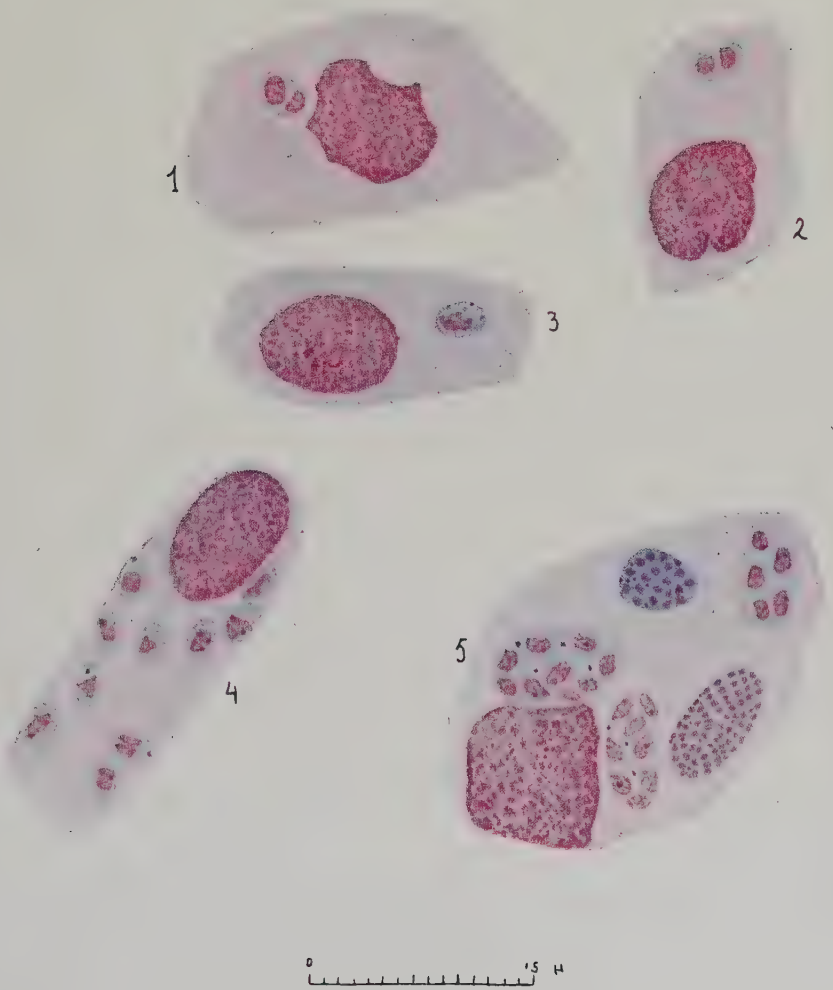
1931. Some general results of a study of induced malaria in England. Trans. Roy Soc. Trop. Med. Hyg. 24 (5) : 477-538.

Paraense, L., Meyer, H. & Meneses, V.

1942. Estudos sobre "Plasmodium gallinaceum". Comportamento dos esporozoitos em cultura de baço embrionário. Rev. Brasil. Biol. 2(1) : 89-94.

Schaudinn, F.

1903. Studien über krankheitserregende Protozoen. II. *Plasmodium vivax* (Grassi & Feletti) der Erreger des Tertianfiebers beim Manschen. Arb. Kaiserl. Gesundhtsmt. 19 : 169-250.




**L. Paraense:** Aspectos parasitários do P. Gallinaceum

# Estudos sobre nematodeos filarideos

## Dipetalonema caudispina (Molin 1858) (*)

por

J. F. Teixeira de Freitas

(Com 2 figuras no texto)

Molin, em 1858, em sua monografia sobre filarídeos, ao lado de outras espécies parasitas de primatas que descreve como novas, apresenta a descrição de *Filaria caudispina,* atualmente considerada pela maioria dos helmintologistas como identica à *Dipetalonema gracilis* (Rudolphi, 1809), espécie esta tambem estudada por Molin e com a qual, na opinião do pesquisador italiano, fora confundida.

Como há algum tempo vimos nos dedicando ao estudo dos filarídeos brasileiros, temos agora oportunidade de focalizar a validade de *F. caudispina,* que mostraremos ser boa espécie, pertencente ao gênero *Dipetalonema.*

Molin descreve *F. caudispina* da seguinte maneira:

> "Os inerme; corpus longissimum; extremitas anterior crassiuscula; posterior acuminata tribus spinulis armata, altero terminali, reliquis lateralibus; extremitas caudalis maris in octo anfractus involuta, duobus nodulis successivis ante apicem praedita; vagina penis dipetala, ab apice distans; penis...; extremitas caudalis feminae inflexa, duos in anfractus torta. Longit. mar. 3 ½ — 5"; crassit. 1/4"'. Longit. fem. 10-14"; crassit. 1/3-1/2"',

referindo a sinonímia seguinte:

> "Daubenton. Hist. d. Natur. VIII. 1. 14. 15. 20. Tab. II. 3 (Simiae Panisci). Filaria gracilis Rudolphi: Entoz. hist. II. 57. — Ej. Synops. 3 et 208 (Exemtis illis Cebi Capucini et Apellae). Filaria gracilis Dujardin nec Rudolphi: Hist. nat. des Helminth. 46

* Recebido para publicação a 6 de abril e dado à publicidade em junho de 1943.

(illa cauda papillosa). Filaria gracilis Diesing nec Rudolphi: Syst. Helm. II. 271 (exemtis illis Cebi Capucini et Apellae, sed lapsu calami illis ore armato adnumerata),

e citando os seguintes hospedadores :

"Cebus Paniscus (Dampierre et Camper), autumno (Bremser), Aprili (Diesing), Julio et Octobri, in Brasilia; — mas, Julio, Volta do Campo dos Veados; — fem., Majo, Fazenda do Padre Battista. — C. Fatuellus fem., Decembri, Matto dentro. — C. Apella mas, Decembri, Matogrosso; — mas, Aprili, Marabitanas; — fem., Septembri, Villa Maria; mas, Novembri, Registo do Rio-Araguay. — C. Arachnoides mas et fem., Martio, Ypanema. — C. (Callithrix) sciureus mas, Aprili, Marabitanas; — mas, Martio, Barra do Rio negro; — mas, Octobri, Salto Theotonio; — fem., Octobri, Barra do Rio negro. — C. lagothrix, Februario, Rio Xie Içanna et Vaupe; — duo mares, Octobri, Salto Theotonio. — C. ursinus, Julio, Rio Mamoré; — mas, Septembri, Ypanema. — Ateles variegatus, Serra Arimani. — Jacchus Rosalia, Novembri, Pará; — mas, Januario, Pará: in eorum cavo abdom. — Cebus ursinus mas, Septembri, Ypanema. — C. (Callithrix) sciureus fem., Octobri, Barra do Rio negro: in eorum cavo thorac. — C. hirsutus mas, Augusto, Mamoré: sub cute ad plantas manuum, nec non in regione volari digitorum. — C. personatus: inter musculos (Natterer). M. C. V."

Em nota acrescenta que examinou numerosos exemplares machos e fêmeas em perfeito estado de conservação e transparência, provenientes dos animais citados anteriormente (1).

---

(1) Os hospedadores citados por Molin teem atualmente, de acordo com o catálogo de Stiles & Nolan (1929), as seguintes designações : *Ateles paniscus* (L.); *Cebus fatuellus* (L.); *Cebus apella* (L); *Brachyteles arachnoides* (Geoffr.); *Saimiri sciurea* (L.); *Lagothrix lagotricha* (Humb.); *Alouatta ursina* (Humb.); *Ateles variegatus* Wagner; *Leontocebus rosalia* (L); *Pithecia monacha* (Humb.) [sin.: *Cebus hirsutus* (Spix)]; *Callicebus personatus* (Geoffr.).

Não podemos confirmar a existência de *D. caudispina* em todas estas espécies porquanto só examinamos material colhido em *Ateles paniscus* (L.). Julgamos as referências de Molin em *C. hirsutus* [= *Pithecia monacha* (Humb.)] — localização subcutânea na palma das mãos — e em *C. personatus* — localização intermuscular — como pouco provaveis de acerto, porquanto *D. caudispina* se localiza na cavidade abdominal. Acreditamos que esta espécie possa ser encontrada na cavidade torácica, porem não no tecido subcutâneo ou muscular; provavelmente as duas referências do pesquisador italiano se aplicam a outra espécie, impossivel de identificar sem o exame do material, que deve existir no Museu de Viena, ou sem que se encontre novamente nos hospedadores referidos e nas mesmas localizações.

Em 1861 Diesing a coloca no gênero *Dipetalonema*, então criado, apresentando a seguinte descrição:

> "Corpus antrorsum crassiusculum, retrorsum attenuatum. Extremitas caudalis spinulis minimis tribus armata, una terminali, reliquis lateralibus, maris in anfractus octo involuta, duobus nodulis successivis ante apicem praedita, feminae inflexa, in anfractus duos torta. Penis vagina ab apice distans. Longit. mar. 3 ½-5", crassit ¼"', feminae 10-14", crassit 1/3-1/2"'. Habitaculum. *Simiae*: in cavo abdominis et thoracis; sub pelle et inter musculos."

Linstow, em 1878, em seu "Compendium der Helminthologie" a refere nos seguintes primatas: *Simia* spec.?; *Mycetes seniculus* Geoffr.; *Lagothrix cana* Geoffr.; *Ateles paniscus* Geoffr.; *Ateles variegata* Wagn.; *Eriodes arachnoides* Geoffr.; *Cebus fatuellus* Erxleben; *Callithrix personata* Geoffr.; *Pithecia monacha* Geoffr.; *Chrysothrix sciurea* Lin. e *Hapale rosalia* Wied (2), e, em 1899, ao estudar material de *Filaria gracilis* Rudolphi, 1809, considera-a, sem qualquer comentário, idêntica à espécie de Rudolphi.

Um quarto de século mais tarde. Ortlepp, estudando helmintos da Guiana Holandesa, diz:

> "Molin (1858) restricted to *Filaria gracilis* only those worms which Rudolphi had idenfied from *Cebus capucini* and *Cebus apella*. Those from Rudolphi's remaining hosts he regarded as a new species to which he gave the name *Filaria caudispina*. His chief reasons appear to be that in *F. gracilis* the "vagina penis" is "monopetala", whereas in *F. caudispina* it is "dipetala", and that the tail of the male in the former species is smooth, whereas in the latter it is provided with two lateral spikes (papillae). As the writer has had occasion to examine, beside the above-mentioned material, several batches of filaria from Brazilian monkeys, he feels that v. Linstow was correct in not regarding Molin's species as justified. The papillae at the tip extremely difficult to see, as stated by Molin himself, and it is thus possible that Molin had overlooked them in those specimens for which he retained Rudolphi's name."

---

(2) Linstow refere, como Molin, 11 hospedadores, porem deixa de citá-la em 3: *C. apella, L. lagotricha* e *A. ursina*, encontradas em Molin, e acrescenta 3 novas referências: *Simia* sp., *Mycetes seniculus [Alouatta seniculus* (L.) da atual nomenclatura] e *Lagothrix cana [L. cana* (Humb.) Geoffr., de acordo com as regras da nomenclatura zoológica]; em todos estes hospedadores refere localização abdominal.

Em 1926, em artigo sobre filárias parasitas de mamíferos de Surinam, van Thiel refere:

> "Ortlepp, with good reason, regarded *Filaria caudispina* Molin as a synonym of *F. gracilis*. One of the characters not mentioned by Ortlepp, which served Molin for establishing his new species, *caudispina*, is the absence of the lateral incisions in the anterior end of the body. I have found, however, among the examined specimens, worms, more or less completely devoid of this incision, which shows that the species *caudispina* Molin is not justified."

Neste mesmo ano Yorke & Maplestone consideram-na, como Linstow, idêntica à espécie de Rudolphi, ao passo que Baylis & Daubney dizem:

> "... *D. caudispina*, appears to be generally recognized as a synonym of *Filaria gracilis* Rudolphi,..."

Em 1928 Boulenger refere:

> "There seems little doubt that Diesing's genotype, *D. caudispina* is a synonym of *Filaria gracilis* Rudolphi,..."

Baylis, em 1929, em seu "Manual of Helminthology", assim se expressa sôbre a espécie de Molin:

> "This imperfectly known species may be identical with *Acanthocheilonema gracile* (Rudolphi), since both are parasitic in South American monkeys."

Ainda em 1929 Stiles & Hassall e Stiles & Nolan, em seus "Key-catalogue" referem-na em todos os hospedadores existentes na literatura, acrescentando mais um: *Callicebus caligatus* (Natt.). Stiles & Hassall escolhem para hospedador tipo da espécie o *Ateles variegatus* Wagner, sem, no entanto, apresentarem qualquer razão que justifique esta escolha.

Em 1934 Baylis, num estudo sobre filarídeos de marsupiais, diz:

> "There appears, however, to be a consensus of opinion that *A. gracile* (Rud.) and *D. caudispina* (Molin), the probable genotype of *Dipetalonema*, are identical."

Analisando o histórico acima, verificamos que a todos os autores que se ocuparam do assunto escapou um fato digno de nota, isto é, a sinonímia constante da descrição apresentada por Molin para sua espécie. Nesta sinonímia encontramos: a) Daubenton, que viu material proveniente de *Simia*

*paniscus* (3); *b*) Rudolphi, excetuando os exemplares provenientes de *Cebus capucinus* e de *Cebus apella; c*) Dujardin, que examinou exemplares existentes no Museu de Paris (4); *d*) Diesing, excetuando os exemplares provenientes de *Cebus capucinus* e de *Cebus apella*.

Verificamos, ainda, que o próprio Molin viu exemplares provenientes de *Ateles paniscus*, que, aliás, é o primeiro hospedador citado, tudo indicando que para os filarídeos colhidos nesta espécie de primata é que Molin erigiu sua nova espécie. Consideramos, discordando de Stiles & Hassall, *Ateles paniscus* (L.) como hospedador tipo de *D. caudispina*.

Assim, se a descrição de Molin é deficiente temos a de Dujardin, que como todas as do grande pesquisador francês, nos dá características bastante boas para uma identificação posterior. Transcrevemos, a seguir, a descrição de Dujardin:

> "Corps blanc très-allongé, mince comme un fil, un peu aminci aux extrémités; tête obtuse, large de 0,07 mm., bouche très-petite, nue triangulaire; oesophage large de 0,035 mm.; tégument à stries transverses très-fines écartées de 0,0014 à 0,002 mm. et avec deux bandes latérales brunâtres."

---

(3) Buffon (1831, Oeuvres complètes) refere à pág. 35 do tomo 14 de mamiferos: "...M. Daubenton, en dissequant ces animaux, y a trouvé une grande quantité de vers dont quelques-uns avaient jusqu'à douze et treize pouces de longueur,..." Neste mesmo tomo encontra-se um artigo de Daubenton, sôbre o coatá, onde, à pág. 49, se lê: "... à l'ouverture de l'abdomen, il s'est trouvé sur les intestins plusieurs vers (pl. 444, fig. 3) très-longs et très-minces, ils étaient cylindriques et pointus par les deux bouts, les plus-grands avaient jusqu'à treize pouces de longueur sur un quart de ligne de diamètre." A figura de Daubenton representa o contorno de uma fêmea. Para o primata em questão Buffon dá as seguintes designações: "*Ateles paniscus* Geoff., Desm.; *Simia paniscus* Linn."

Parece que a primeira referência a um filarideo, parasito de coatá é feita por Dampier, porquanto Buffon refere, em rodapé, à pág. 34: "... ces animaux ont quantité des vers dans les entrailles; j'en tirai une fois ma pleine main du corps d'un que nous ouvrimes; et il y en avait de sept ou huit pouces de long (Voyage de Dampier, t. 4, p. 225)."

(4) Em nota à descrição feita, Dujardin diz: "J'ai étudié cet helminthe sur les nombreux exemplaires du muséum de Paris. On le trouve assez souvent dans l'abdomen, entre les replis du péritoine des diverses espèces de singes. Daubenton l'avait vu dans le coaïta (*Simia paniscus*), dans lequel on l'a trouvé, ainsi que dans le sajou à Paris et à Vienne. On cite également le papion (*Simia sphinx*), et le saï (*Simia capucina*), comme ayant présenté plusieurs fois la *Filaria gracilis*."

Embora Dujardin não declare o hospedador dos exemplares que estudou, podemos deduzir, pelo último trecho da nota transcrita acima, que *Simia sphinx* (*Papio sphinx* (L.) da atual nomenclatura) e *Simia capucina* (*Cebus capucinus* (L.) no consenso moderno) não o eram, restando, pois, *Simia paniscus* [*Ateles paniscus* (L.)] e o "sajou", nos quais a espécie fôra encontrada em Paris e Viena.

No catalogo de Stiles & Nolan (1929) encontramos, à pág. 552, a designação "sajous" para *Cebus albifrons* (Humb.), no qual, entretanto, não é assinalada a espécie. Provavelmente o termo "sajou", usado por Dujardin, se aplica a *Cebus apella* (L.), já referido, em 1819, por Rudolphi, como hospedador de sua espécie; este primata tem no catalogo de Stiles & Nolan a designação "sapajou monkey". "Sajou" é usado por Buffon para *C. apella*.

E' bem possivel que o helmintologista francês tenha estudado espécimes provenientes de *A. paniscus*, porem, à luz de uma análise ponderada, torna-se impossivel afirmá-lo.

"Mâle long de 90 à 125 mm. large de 0,4 mm. au milieu aminci de part et d'autre et contourné en hélice à l'extrémité posterieur; rapport de la longueur à la largeur 312; queue large de 0,088 mm. terminée en pointe aigüe, recourbée et munie de deux ou trois papilles rangées en série avant la pointe; anus à 0,32 mm. de l'extrémité; spicule principal ou pénis, long de 0,88 mm. courbé en arc et partagé vers le milieu (à 0,46 mm. de la pointe) par une sorte d'articulation en deux portions dont l'antérieure plus épaisse large de 0,02 mm.; spicule accessoire long de 0,23 mm. creusé en gouttière."

"Femelle longue de 200 à 350 mm., large de 0,6 mm. au milieu, plus amincie en arrière où la queue est large seulement de 0,046 mm.; rapport de la longueur à la largeur 500; queue conoïde, terminée para une papille distincte et portant deux autres papilles latérales symétriques longues de 0,015 mm.; vulve située à 0,5 mm. de la tête; oviducte simple (?) large de 0,17 mm.; oeufs elliptiques, longs de 0,017 à 0,020 mm."

Em 1920 *Filaria gracilis* Rudolphi, 1809 foi reestudada por Boulenger sob o nome *Acanthocheilonema gracilis;* embora não tenha este autor visto material proveniente do hospedador tipo — *Cebus capucinus* (L.) — o que só foi feito por McClure em 1932, sua descrição é bastante minuciosa e veio permitir, portanto, uma comparação entre as duas espécies: *F. gracilis* Rudolphi e *F. caudispina* Molin.

Comparando as descrições de Boulenger e de Dujardin vamos encontrar uma diferença de grande valor sistemático:

"... the long spicule is 1,23 mm. in length, and consists of an anterior tubular region, 0,33-0.36 mm. in length, followed by a long thin terminal region..." (*F. gracilis* segundo a descrição de Boulenger, 1920) e

"... spicule principal ou pénis, long de 0,88 mm. courbé en arc et partagé vers le milieu (à 0,46 mm. de la pointe) par une sorte d'articulation en deux portions dont l'antérieure plus épaisse..." (*F. caudispina* segundo a descrição da Dujardin, 1845),

isto é, a conformação do espículo maior, embora semelhante, apresenta diferenças específicas, pois que na espécie de Rudolphi a porção mais larga, proximal, está para a mais fina, distal, aproximadamente na relação de 1:3, ao passo que na espécie de Molin esta relação é aproximadamente de 1:1.

Estas conclusões, tiradas da análise crítica da literatura foram confirmadas pelo exame de material proveniente de *Ateles paniscus* (L.) (5) que fizemos, permitindo-nos, assim, revalidar a espécie de Molin, que a seguir estudaremos.

*Dipetalonema caudispina* (Molin, 1858) Diesing. 1861.

Vers d'un coaita Daubenton, *in* Buffon, 1831, p. 49, pl. 444, fig. 3.

*Filaria gracilis* Dujardin, 1845, p. 46, *nec* Rudolphi, 1809.

*Filaria caudispina* Molin, 1858, pp. 382-383, 453, 456, 460, pl. 1, fig. 4.

*Dipetalonema caudispina* Diesing, 1861, pp. 703-704.

*Filaria caudispina* Linstow, 1878, pp. 5, 7, 8, 9, 10.

*Dipetalonema caudispina* Stiles & Hassall, 1905, p. 100.

*Dipetalonema caudispina* Stiles, 1907, p. 37.

*Filaria caudispina* Ortlepp, 1924, p. 19.

*Filaria caudispina* van Thiel, 1926, p. 133.

*Dipetalonema caudispina* Baylis & Daubney, 1926, p. 196.

*Filaria caudispina* van Thiel, 1927, p. 193.

*Filaria caudispina* Walton, 1927, p. 111.

*Dipetalonema caudispina* Boulenger, 1928, p. 33.

*Dipetalonema caudispina* Baylis, 1929, p. 208.

*Dipetalonema caudispina* Stiles & Hassall, 1929, pp. 464-465.

*Dipetalonema caudispina* Stiles & Nolan, 1929, pp. 506, 549, 550, 552, 553, 554, 556, 557, 558, 559, 561, 563.

*Dipetalonema caudispina* Artigas & Pacheco, 1933, p. 27.

*Dipetalonema caudispina* Baylis, 1934, p. 551.

*Filarioidea* sp. d'Almeida, 1937, p. 297.

Comprimento — ♂♂ 113 a 127 mm., ♀♀ 310 a 320 mm.

Largura — ♂♂ 0,36 a 0,37 mm., ♀♀ 0,62 a 0,68 mm.

Corpo com cutícula estriada longitudinalmente e com estrias transversais muito finas e delicadas. Extremidades atenuadas. Extremidade cefálica com dois espessamentos laterais pouco salientes, possuindo três pares de papilas cefálicas: um lateral, um látero-dorsal e um látero-ventral. Cavi-

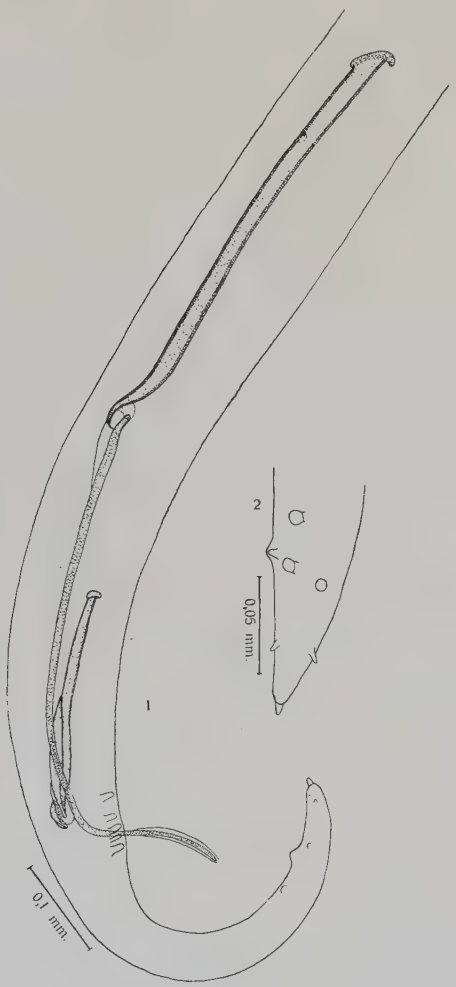
(5) Chamamos a atenção para o fato de que *A. paniscus* não é somente parasitado por *D. caudispina;* pode ele, tambem, hospedar *D. gracilis,* como já tivemos ocasião de observar no decorrer de nossos estudos.

dade bucal reduzida. Esôfago com 2,56 a 3,53 mm. de comprimento nas ♀ ♀ e 2,24 a 2,82 mm. nos ♂ ♂, e dividido em duas porções, uma anterior muscular e outra posterior glandular, sendo que a primeira mede 0,39 a 0,51 mm. de comprimento nas ♀ ♀ e 0,27 mm. nos ♂ ♂. Intestino mais ou menos retilíneo. Anel nervoso situado a 0,16 a 0,23 mm. da extremidade anterior nas ♀ ♀ e a 0,22 mm. nos ♂ ♂. Poro excretor e papilas cervicais não observados.

Fêmeas didelfas, opistodelfas, vivíparas com vulva de lábios não salientes, situada a 0,38 a 0,53 mm. da extremidade anterior. Ovejetor longo, com 4,52 mm. de comprimento, possuindo uma vagina desenvolvida, alongada e irregular, que mede 0,43 mm. de comprimento. Em alguns exemplares o corpo apresenta uma leve dilatação ao nivel da vagina. Úteros mais ou menos paralelos, com microfilárias, formando, em niveis diferentes, pregas longitudinais de maior ou menor extensão, e apresentando a porção inicial, antes dos ovidutos, diferenciada em espermateca, longa e pouco globosa. Ovidutos pregueados. Ovários pregueados, situados na região posterior do corpo, antes da abertura anal. Anus situado a 0,46 a 0,50 mm. da ponta da cauda. Extremidade posterior com duas curvaturas: uma ventral, logo após a abertura anal, e outra dorsal, mais próxima do ápice. Apice caudal com três apêndices papiliformes: dois ventro-laterais, a curta distância do ápice, e um terminal.

Machos com espículos desiguais e dissemelhantes. O espículo maior mede 0,95 a 1,05 mm. de comprimento e se apresenta dividido em duas porções: uma proximal, mais quitinisada e mais grossa, que mede 0,46 mm. de comprimento, e outra distal, menos quitinisada e mais fina, que termina em ponta romba. A relação entre as duas porções deste espículo é aproximadamente de 1:1 (1:1,06 a 1:1,28). Espículo menor com 0,22 a 0,28 mm. de comprimento, com base alargada e ponta romba. A relação entre os espículos é aproximadamente de 1:4. Gubernáculo presente, com 0,031 a 0,037 mm. de comprimento. Extremidade posterior enrolada em espiral, com 5 a 6 espiras. Asas caudais ausentes. Cauda com dois grupos papilares: um situado na região anal e outro proximo à região apical. O grupo anal compreende cinco pares de papilas muito aproximadas, dos quais os dois primeiros são preanais, os terceiro e quarto adanais e o quinto postanal, podendo, no entretanto, esta disposição relativamente ao anus sofrer pequenas modificações; geralmente o último par é representado por papilas mais desenvolvidas e o quarto par por aquelas menos desenvolvidas. A única variação observada no número das papilas deste grupo consistiu na ausência de uma papila do quarto par em um exemplar. O grupo apical de papilas é representado por quatro papilas assim dispostas: uma papila me-

diana ventral: um pouco para trás desta uma outra papila tambem mediana ventral, ao nivel da qual existem duas papilas ventro-laterais, uma de cada lado. Próximo à ponta da cauda encontram-se dois apêndices papiliformes, cônicos, de situação látero-ventral. Ápice caudal com um apêndice papili-




*Dipetalonema caudispina* (Molin, 1858) — Fig. 1: Cauda do ♀ ; fig. 2: região distal da cauda do ♂ Figuras originais.

forme, terminal. Orifício anal com bordos salientes, situado a 0,43 a 0,48 mm. da ponta da cauda. Aparelho genital dirigido para diante, retilíneo. Canal diferente pregueado transversalmente. Testículo atingindo o nivel do fim do esôfago.

*Habitat* — Cavidade abdominal de *Ateles paniscus* (L.)

*Proveniência* — Estado do Pará, Brasil.

O material que serviu para o presente estudo, coletado por R. Ferreira d'Almeida em 27-IX-936, na Cachoeira do Breu, rio Cuminá, Pará, consiste de cinco ♂♂, dos quais um fragmentado, e 18 ♀♀, alem de vários outros fragmentos de ♀♀. Medimos três ♂♂ e três ♀♀; dissecamos duas ♀♀ fragmentadas e a cauda de um ♂. Observamos a disposição das papilas caudais dos ♂♂ em quatro exemplares.

Baseados no estudo de abundante material de *D. gracilis* (Rudolphi, 1809), podemos dizer que, alem da grande diferença existente no espículo maior, *D. caudispina* (Molin, 1858) apresenta a separação das duas regiões do esôfago menos nítida e a segunda curvatura da cauda da ♀ menos pronunciada que na espécie de Rudolphi.

## SUMMARY

The A. studies critically the literature on *D. caudispina* (Molin, 1858) and concludes that it is a good species, differing from *D. gracilis* (Rudolphi, 1809), principally, by the longer spicule. This conclusion is confirmed by the study of material collected by d'Almeida in the abdominal cavity of one specimen of *Ateles paniscus* (L.), of the State of Pará, Brazil.

In contradiction to Stiles & Hassall's opinion the A. indicates this monkey for host-type of the Molin's species.

A synonymic list and a redescription of *D. caudispina* are given.

## BIBLIOGRAFIA

d'Almeida, R. F.

1937. Excursão cientifica aos rios Cuminá e Trombetas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 32 (2) : 235-298, ests. 1-5, 17 figs.

Artigas, P. T. & Pacheco, G.

1933. A new species of filaria from *Myocastor coipus*. *Dipetalonema travassosi* n. sp. (Nematoda : Filarioidea). Rev. Biol. & Hyg., S. Paulo, 4 (1) : 23-27, figs. 1-4.

Baylis, H. A.

1929. A manual of Helminthology medical and veterinary. XI + 303 pp., 200 figs. London.

Baylis, H. A.

1934. On two filariid parasites of marsupials from Queensland. Ann. Mag. Nat. Hist., ser. 10, 13 : 549-554, 2 figs.

Baylis, H. A. & Daubney, R.

1926. A synopsis of the families and genera of Nematoda XXXVI + 277 pp. London.

Boulenger, C. L.

1920. Filariid worms from mammals and birds in the Society's Gardens, 1914-1915. Proc. Zool. Soc. London : 491-505, figs. 1-12.

Boulenger, C. L.

1928. Report on a collection of parasitic nematodes, mainly from Egypt. Part V, *Filarioidea*. Parasit., 20 : 32-55, 51 figs.

Buffon, G. L. L.

1831. Oeuvres complètes, avec les descriptions anatomiques de Daubenton, son collaborateur. Nouvèlle édition. Paris. T. 24. Le coaita et l'exquima. Mammifères, t. 14, pp. 31-45, pl. 443.

Daubenton, L. J. M.

1831. Description d'un coaita. *In* Buffon, 1 c., pp. 46-57, pls. 443-445.

Diesing, K. M.

1851. Systema Helminthum, 2, VI + 588 pp., 2 1. Vindobonae.

Diesing, K. M.

1861. Revision der Nematoden. Sitzungsb. d. k. Akad. d. Wissensch., Wien, Math.-naturw. Cl., 42 (28) : 595-736, 1 pl., figs. 1-11.

Dujardin, F.

1845. Histoire naturelle des helminthes ou vers intestinaux. XVI + 654 + 15 pp., 12 pls. Paris.

Linstow, O.

1878. Compendium der Helminthologie. XXII + 382 pp. Hannover.

Linstow, O.

1899. Nematoden aus der berliner zoologischen Sammlung. Mitt. a. d. zool. Samml. d. Mus. f. Naturk. in Berl., 1 (2) : 3-28, pls. 1-6, figs. 1-78.

McClure, G. W.

1932. Nematode parasites of mammals, with a description of a new species *Wellcomia branickii*. Zoologica New York, 15 (1) : 1-28, fig. 1.

Molin, R.

1858. Versuch einer Monographie der Filarien. Sitzungsb. d. k. Akad. d. Wissensch., Wien, Math.-naturw. Cl., 28 (5) : 365-461, pls. 1-2, 15 figs.

Ortlepp, R. J.

1924. On a collection of helminths from Dutch Guiana. J. Helmint., 2 : 15-40, figuras 1-14.

RUDOLPHI, C. A.

1809. Entozoorum sive vermium intestinalium historia naturalis, 2 (1), 457 pp., pls. 7-12. Amstelaedami.

RUDOLPHI, C. A.

1819. Entozoorum synopsis cui accedunt mantissa duplex et indices locupletíssimi. X + 811 pp., 3 pls. Berolini.

STILES, C. W.

1907. The zoological characters of the roundworm genus *Filaria* Mueller, 1787, with a list of the thread worms reported for man. Bul. 34, Hyg. Lab., U. S. Pub. Health & Mar.-Hosp. Serv., Washington, pp. 31-51, figs. 26-34.

STILES, C. W. & HASSALL, A.

1905. The determination of generic types, and a list of roundworm genera, with their original and type species. Bull. 79, Bur. Anim. Indust., U. S. Dept. Agric., Washington, pp. 1-150.

STILES, C. W. & HASSALL, A.

1929. Key-catalogue of parasites reported for Primates (monkeys and lemurs) with their possible public health importance. Hyg. Lab. Bull. n. 152. U. S. Treas. Dept., Public Health Serv., Washington, pp. 409-491.

STILES, C. W. & NOLAN, M. O.

1929. Key-catalogue of Primates for which parasites are reported. Hyg. Lab. Bull. n. 152, U. S. Treas. Dept., Public Health Serv., Washington, pp. 491-601.

VAN THIEL, P. H.

1926. On some filariae parasitic in Surinam mammals, with the description of *Filariopsis asper* n. g., n. sp. Parasit., 18 : 128-136, figs. 1-17.

VAN THIEL, P. H.

1927. On some filariae parasitic in Surinam mammals, with the description of *Filariopsis asper* n. g. , n. sp. Acta Leidensia Schol. Med. Trop., 2 : 187-197, figs. 1-17.

WALTON, A. C.

1927. A revision of the nematodes of the Leidy collection. Proc. Acad. Nat. Sc., Philadelphia, 79 : 49-163, pls. 4-10, 92 figs.

YORKE, W. & MAPLESTONE, P. A.

1926. The nematode parasites of vertebrates. X + 536 pp., 307 figs. London.

# Alterações patológicas do apêndice vermiforme contendo Proglottis de Tænia sp. (*)

por

C. Magarinos Torres

(Com 8 figuras no texto)

Em apêndice vermiforme que nos foi enviado, para esclarecimento do diagnóstico clínico, pelo ilustrado colega Dr. Ivan de Andrade Reis, de São João del Rey, Estado de Minas Gerais, encontramos, além de quadro histológico peculiar, *proglottis* de *Taenia* sp., em seu interior.

São já numerosos os casos publicados de apendicite aguda, associados à presença, no interior do órgão, de helmintos, embora discutido o papel que êstes, de fato, representam na patogenia das lesões.

A literatura é mais numerosa em relação aos nematódios (Hueck, 1913), especialmente ao *Oxyurus* e *Trichuris*. Ao contrário, é relativamente pobre, no que respeita a cestódios. Na que pudemos consultar, notamos escassez de informações sôbre a histologia patológica, maior desenvolvimento sendo dada, quase sempre, à parte clínica.

Fischer (1929), no Tratado de Anatomia e Histologia Patológica de

> "Selten ist auch, dass durch grösseren Bandwnrmknauel eine Verlegung des Darms auftritt; nicht so ganz selten gelangen abgehende Glieder in der Wurmfortsatz und können dadurch unter Umständen Beschwerden verursachen; eine Anzahl solcher Fälle, die unter der Diagnose "Appendizitis' operiert worden sind, ist bekannt."

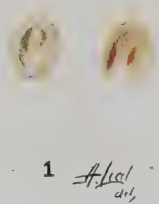
No mesmo Tratado, Christeller & Mayer (1929) publicam o desenho de um apêndice contendo anéis de *Taenia* não identificada. No texto, dizem, ùnicamente :

> "Es liegen noch Bruckstücke von Bandwurmgliedern und ein Häufchen Eier in der Lichtung. Die Schleimhaut ist durch die Fül-

* Recebido para publicação a 8 de abril e dado à publicidade em junho de 1943.

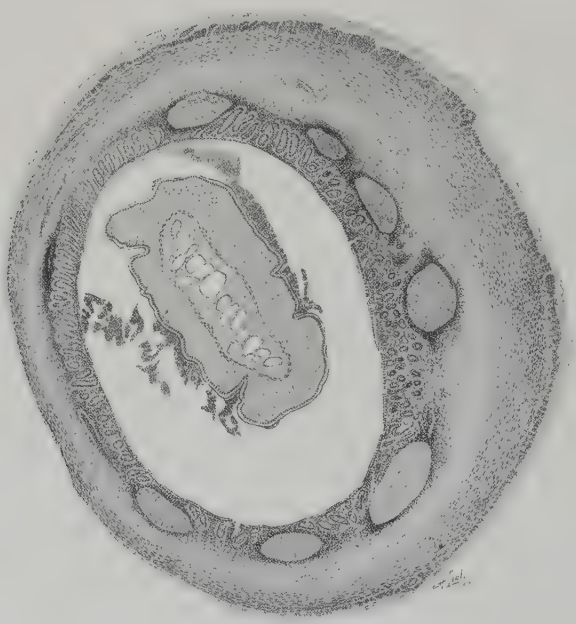
lung abgeplattet, aber das Schleimhautepithel ist unverletzt und weder in der Lichtung noch in der Wand besteht Leucozytenexudation."

Pytel (1933) informa que cestódios são raramente achados no apêndice vermiforme do homem. Aos 26 casos que encontra mencionados na literatura, junta mais dois, de sua própria observação. Em um dêles, foram colhidos quatro segmentos de *Taenia saginata,* no outro, dois segmentos de *T. solium.* Pensa que os segmentos são capazes de predispor, pela irritação mecânica ou tóxica, a processos inflamatórios, não produzindo, êles mesmos, inflamação.



1

Fig. 1 — Segmentos de apêndice vermiforme (cortes transversos) contendo *proglottis* de *Taenia* sp. Os desenhos, em tamanho natural, foram feitos do material já incluido em parafina, colocado, no momento, em banho de parafina fundida.



2

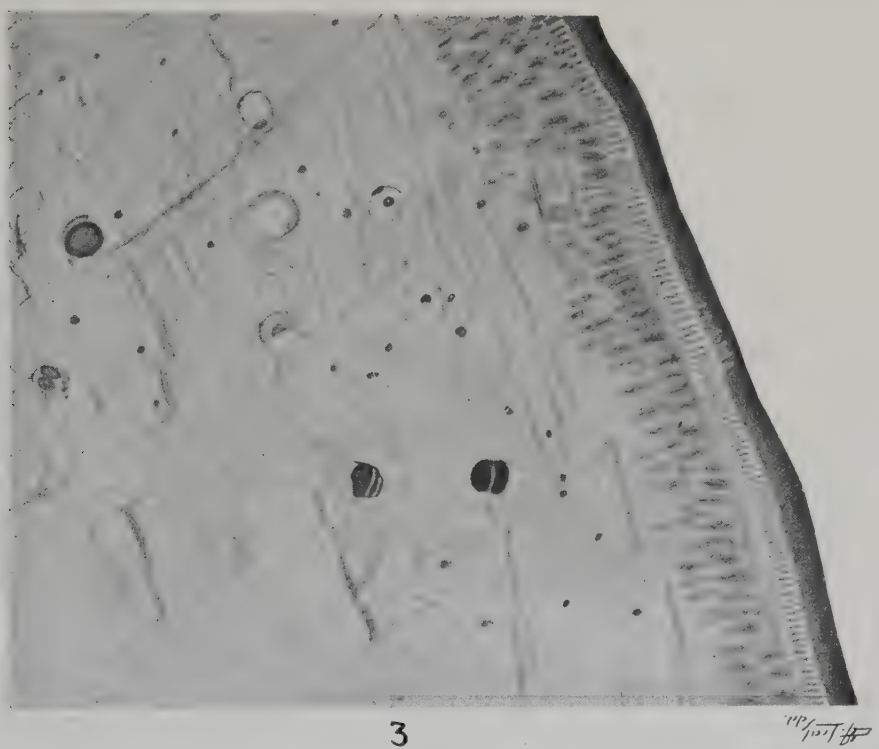
Fig. 2 — Corte transverso de apêndice vermiforme encerrando *proglottis* de *Taenia* sp. As lesões, pouco pronunciadas nesse aumento, constam de infiltração difusa discreta, da mucosa e submucosa, por leucocitos eosinófilos. Epitélio de revestimento conservado, com alterações demonstradas na Fig. 5.

Altenkamp (1935) publica dois casos de apendicite aguda em doentes infestados por cestódios. Em um dêles, mulher de 32 anos de idade, com o diagnóstico histológico de apendicite aguda, o órgão continha dois anéis de uma *Taenia,* com cerca de 2 cm. de comprimento, dotados de movimentos ativos. No segundo paciente, de 19 anos de idade, os preparados microscópicos mostravam, além de congestão da serosa, uma inflamação difusa da mu-

cosa. No ápice do apêndice, o qual media 20 cms. de comprimento, existiam dois anéis de cestódio, juxtapostos.

Casos de apendicite em infestação por *Taenia*, e de apendicite aguda produzida por *Taenia saginata* são, ainda, relatados por GIORDANO & NICASTRO (1936) e por BOVERI (1939).

A questão do papel, realmente desempenhado por helmintos, em processos patológicos apendiculares, a nosso ver, não tem progredido como seria de



3

Fig. 3 — Vista parcial de um corte transverso de *proglottis* de *Taenia* sp. Cutícula, formada por uma camada homogênea onde aparecem tróforos e uma camada de pêlos ou comídios. Nota-se edema da camada dos comídios. Células subcuticulares cilíndricas, lembrando células entodermicas, dispostas em 2-3 camadas. Corpúsculos calcáreos. Sistemas alternados de fibras musculares longitudinais e transversais.

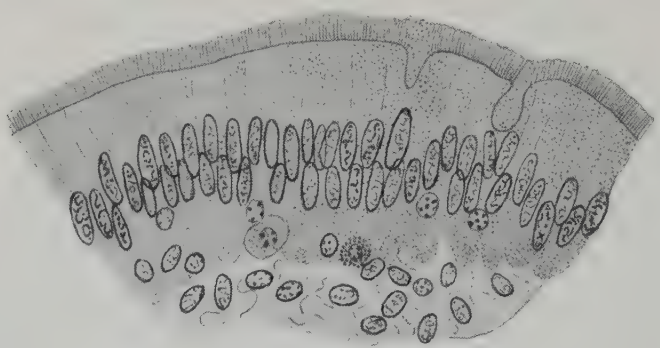
esperar, em virtude de documentação anatomopatológica insuficiente. A maioria dos trabalhos não são da autoria de anatomopatologistas, a contribuição, nêsse campo, em geral limitando-se a simples enunciado do diagnóstico anatômico, tal apendicite aguda.

Seria preferivel que, nesses trabalhos, fossem feitas descrições microscópicas minuciosas, tanto quanto possível documentadas, afim de que cada ana-

tomopatologista, de acôrdo com sua experiência, pudesse julgar qual o diagnóstico realmente aplicável, em cada caso concreto. Foi essa a orientação que procuramos seguir, no presente trabalho.

O apêndice vermiforme foi recebido, imerso no líquido fixador (formol a 10 %), conservando, ainda, a ligadura de categut, em sua extremidade proximal, o que leva a crer que mantivesse o conteúdo que apresentava no momento de ser praticada a apendicectomia. Mostra dimensões normais e forma levemente sinuosa. O peritôneo é brilhante, sendo os vasos fortemente turgidos e bem desenhados, ao nível do têrço médio.

Foi, então, subdividido, por meio de cortes orientados perpendicularmente ao seu maior diâmetro, em 11 fragmentos diferentes, cada um dos quais com cerca de 5 mm de espessura, todos incluídos em parafina.



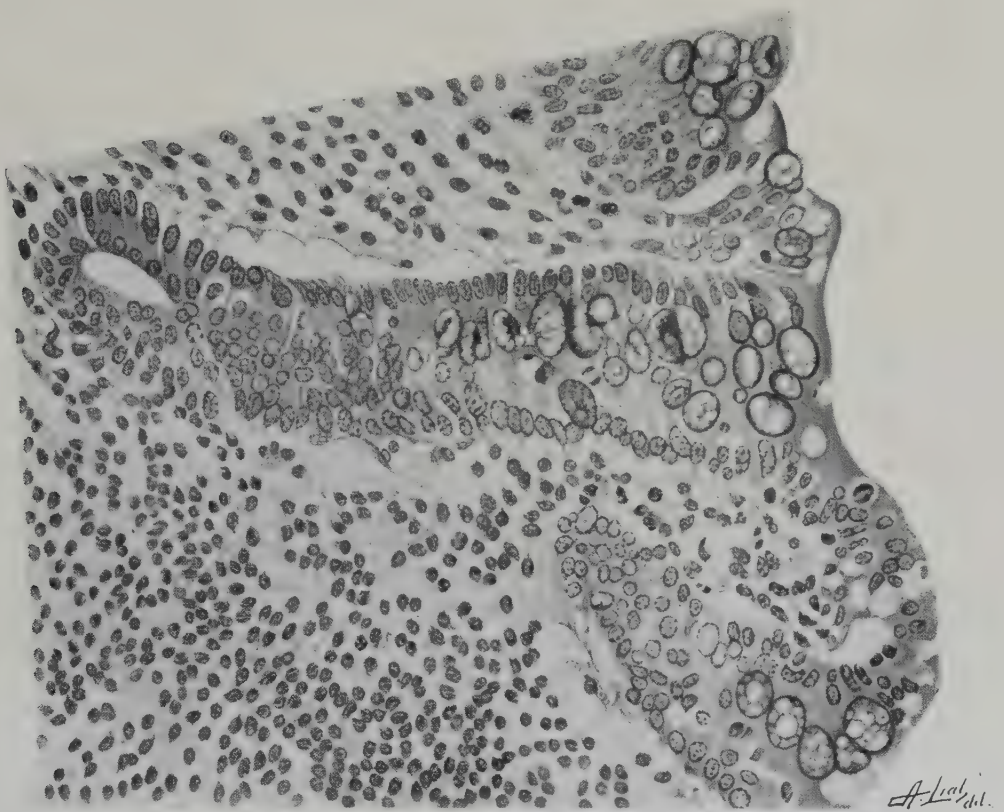
4

Fig. 4 — Copia da Fig. 11, da monografia de ASCHOFF. Aspecto normal do epitélio de revestimento na mucosa do apêndice vermiforme. Comparar com as Figs. 5 e 8.

O exame dos preparados microscópicos mostrou, em dois desses fragmentos, a presença de *proglottis* de *Taenia*. As Figs. 1 e 2 foram feitas, dêsses dois fragmentos, colocados, de novo, na ocasião, em um banho de parafina fundida. Neles, o helminto, cortado em sentido transverso, embora não exatamente perpendicular ao seu maior diâmetro, apresenta forma elítica, medindo os seus maiores diâmetros, em cada fragmento, respectivamente 4,5x2 mm e 5x2,5 mm.

Enviados os preparados histológicos, ao Prof. Lauro Travassos, Chefe da Divisão de Zoologia do Instituto Oswaldo Cruz, afim de obter a diagnose dos parasitos, dêle recebemos o seguinte resultado : "Corte de proglote de *Taenia* (provavelmente *T. saginata* Goeze, 1782). A orientação do corte e ausência de ovos não permite diagnóstico seguro. Ovos de *Trichuris trichiura* (L., 1771)."

A lesão mais evidente, nos fragmentos que encerram o helminto, aparece na própria mucosa. Esta conserva-se íntegra, mas diferencia-se, de modo, flagrante, da de um apêndice normal, pelas dimensões consideráveis que atingem as células caliciformes, tanto no epitélio de revestimento, como no das glândulas de Lieberkühn (Fig. 5).



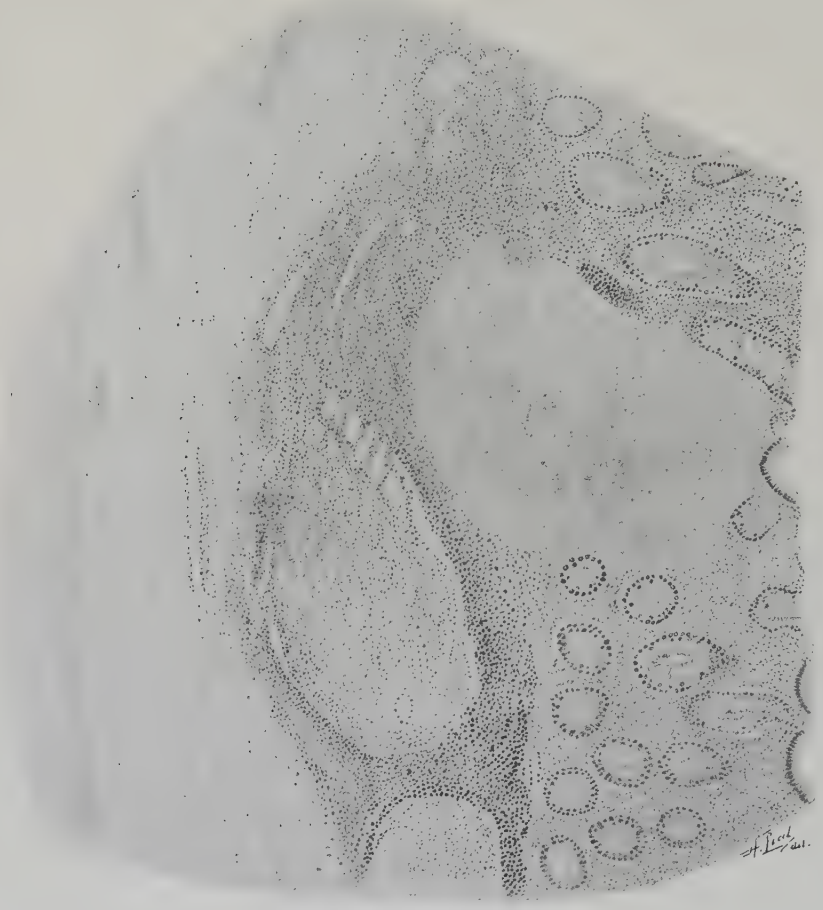
5

Fig. 5 — Mucosa do apêndice vermiforme que encerra *proglottis* de *Taenia* sp. Aumento consideravel de volume das células caliciformes tanto no epitélio de revestimento, como nas glândulas de LIEBERKÜHN.
Aumento: — 410 vezes.

Mais discreta é outra modificação do epitélio de revestimento na qual as celulas, mais numerosas que o normal, apresentam, algumas, os núcleos, de dimensões variáveis, dispostos paralelamente ou obliquamente à superficie da mucosa (Fig. 8.).

O aumento consideravel das dimensões das células caliciformes traduz uma produção excessiva de muco, consequente à irritação da mucosa. Quanto ao polimorfismo e desorientação de células epiteliais de revestimento, lembram

tais modificações o epitélio atípico regenerado que ocorre em diversas condições patológicas, e do qual existe uma boa ilustração, no tratado de HENKE & LUBARSCH (Bd. IV-3, S. 520).



6

Fig. 6 — Inflamação eosinófila na mucosa de apêndice vermiforme que contém, em outros pontos, *proglottis* de *Taenia* sp. Os leucocitos eosinófilos, muito numerosos, dispõe-se lado a lado, com exclusão quasi completa de outras células, disposição que lembra a de leucocitos neutrófilos na apendicite aguda. Epitélio de revestimento integro. Aumento: — 80 vezes.

Em fragmentos onde o helminto não é encontrado, nota-se infiltração célular inflamatória de todas as túnicas do apêndice, com caracteres peculiares, que passamos a referir.

Primeiramente, a infiltração, embora difusa, é muito mais intensa, em determinados pontos, que em outros (focos de infiltração). Os focos de maiores dimensões se localizam na submucosa (Fig. 6), oferecendo a particulari-

dade de serem formados, de modo, por vezes, exclusivo, por leucocitos eosinófilos; o epitélio de revestimento conserva-se íntegro, ao nivel dêsses focos de intensa eosinofilia, afastando, assim, a possibilidade de corresponderem a pontos iniciais de infecção ("Primärinfekt"). Examinados com fraco aumento, simulam os flemões ou microabcessos referidos na apendicite flegmonosa, dos quais se distinguem pela sua constituição histológica (leucocitos eosinófilos, ausência de polimorfonucleares neutrofilos (Fig. 7).

Na camada interna de fibras circulares da túnica muscular, verifica-se uma infiltração célular perivascular, cujas células são, exclusivamente, leucocitos ecsinófilos. Geralmente tais células se dispõem em uma única fileira, ao longo da parede externa dos pequenos vasos; raramente se acumulam em maior número, nunca formando aglomerados de numerosos elementos, comparaveis aos que, usualmente, se encontram na infiltração linfocitária perivascular (manguitos perivasculares).

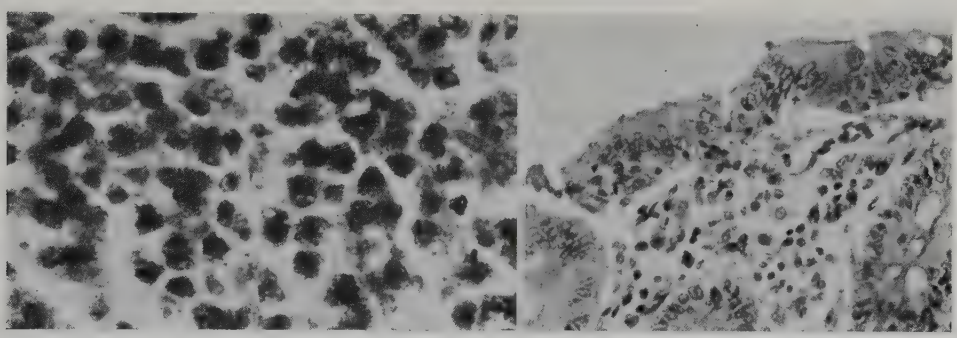


Fig. 7 — Constituição do exudado inflamatório na mucosa do apêndice contendo proglotes de *Taenia* sp. As células dominantes são leucocitos eosinófilos. Aumento: — 630 vezes.

Fig. 8 — Regeneração do epitélio de revestimento. Células epiteliais polimórficas, aumentadas de número, modificadas em seu arranjo reciproco. Aumento: — 140 vezes.

A infiltração eosinófila é discreta, na camada externa de fibras musculares longitudinais, e na túnica serosa, e, mesmo assim, presente, apenas, em raros pontos. Além de escassos eosinófilos, nota-se, em tôrno de certos vasos da túnica peritoneal, infiltração linfocitária discreta. Em outros pontos, os linfocitos invadem os tecidos da serosa, de modo a constituirem pequenos focos de contornos ovais, no corte. Tal aspecto, provavelmente, representa fase inicial de nova formação de nódulos linfoides, sequela bem conhecida de processo inflamatório anterior; contudo, não alcançam as dimensões, nem existem em número comparável aos representados por Christeller & Mayer (*in* Henke & Lubarsch. Tratado de Anatomia Patologica,, V. IV-3, páginas 523).

A eosinofilia local, ou inflamação eosinófila acima referida, não é encontrada, com a mesma intensidade, em todos os fragmentos do apêndice. Justamente em um dêles, que contém o helminto, é onde ela se apresenta de modo menos intenso, de fato, apenas esboçada.

Embora a infiltração eosinófila se extenda, de modo difuso, como dissemos, a tôda a submucosa, em muitos fragmentos os eosinófilos permanecem isolados e separados entre si, por espaços consideráveis, onde só existem fibras colagenas e os raros fibrocitos normais no tecido.

Além de hiperemia, sobretudo evidente na submucosa e na serosa, outras lesões encontradas, estas apenas em raros pontos, e sempre de modo discreto, constam de tumefação e multiplicação dos núcleos do endotélio dos pequenos vasos, e de proliferação de fibrocitos.

Detalhe importante, que desejamos deixar bem patente, foi a ausência completa de focos de infiltração por leucocitos polimorfonucleares neutrófilos, o que exclue, por si mesmo, o diagnóstico de apendicite aguda, qualquer que seja a variedade considerada, ou a sistematização adotada. Se seguirmos a de CHRISTELLER & MAYER (1929), diremos que nenhuma lesão microscópica existe sugerindo os diagnósticos de *appendicitis superficialis catarrhalis,* de *appendicitis superficialis exulcerans,* de *appendicitis superficialis haemorrhagica,* de *appendicitis phlegmonosa,* de *appendicitis phlegmonosa-ulcerosa,* de abcesso parietal, de apendicite disecante, de perfuração ulcerosa, e de gangrena e necrose parietal.

## DISCUSSÃO

Os leucocitos eosinófilos aparecem, raramente, em tecidos inflamados, e sòmente em condições especiais (doença de Hodgkin, inflamação alérgica e condições similares, MAXIMOW, 1927). Os elementos típicos, em qualquer espécie de inflamação, são os leucocitos (polimorfonucleares) especiais (os neutrófilos, no organismo humano).

E' sabido que os tecidos mais frequentemente afetados pela alergia, são os que mais comumente entram em contacto com proteinas estranhas nocivas, ou sejam, os tractos respiratório e gastrointestinal.

A reação eosinófila da alergia não se limita ao sangue, ocorrendo, também, na secreção nasal, no escarro e nos tecidos (RINGOEN, 1938).

A hipótese mais aceita, atualmente, é a de que os leucocitos eosinófilos mantém relações com o metabolismo das proteinas, sendo a ensinofilia explicada, de modo mais satisfatório, como uma quemotaxia (RINGOEN).

Ao passo que as proteinas estranhas representam os fatores principais na produção de eosinofilias, os produtos oriundos de proteinas homólogas exercem ação pequena ou nula, sôbre os eosinofilos. Segundo SCHLECHT (cit. por RINGOEN), a eosinofilia expressa a reação do organismo contra produtos toxicos provenientes da decomposição de proteinas estranhas ou naturais, sendo, contudo, necessária uma sensibilização prévia, Assim indicam os resultados obtidos pelo HERRICK (1913), na eosinofilia experimental após injeções de extrato de *Ascaris lumbricoides,* parecendo que esteja filiada a fenômenos anafilactoides. Segundo SCHAWARZ (cit. por RINGOEN), as proteinas resultantes da destruição de células epiteliais, podem agir como substâncias eosinotácticas.

Alguns pesquisadores afirmam que os eosinófilos do tracto gastrointestinal desempenham o papel de desintoxicar materiais absorvidos na luz do intestino.

E' noção corrente que os metazoários parasitos ocasionam eosinofilia em gráu variavel de intensidade. Exemplos de produção experimental de eosinofilia por helmintos, são numerosos, na literatura. Entre os mais conhecidos, citaremos os de PRÖSCHER & PAPPENHEIM (1904), que a obtém após injeções intravenosas de extratos de *Taenia saginata,* de PRÖSCHER (1905), após injeção intraperitoneal de extratos de *Taenia solium,* de OPIE (1904), na triquinose experimental, de HERRICK (1913), após injeções intraperitoneaes de extratos aquosos de *Ascaris lumbricoides,* etc.

No apêndice vermiforme contendo proglotes de *Taenia* sp. por nós estudado, a intensidade da infiltração célular, nas túnicas mucosa, submucosa e muscular (fibras circulares), é comparável à que se observa na apendicite aguda flegmonosa. Contudo, as células encontradas são, quasi que exclusivamente, leucocitos eosinófilos. Sendo assim, as lesões não podem ser identificadas a um processo inflamatório agudo, no qual os leucocitos especiais (polimorfonucleares neutrófilos) constituem o elemento característico. A mucosa conserva-se íntegra, mesmo nos pontos em que a distensão do corion pelos eosinófilos é extrema. Nenhum aspecto lembrando a lesão primária de infecção ("Primärinfekt") foi encontrado, o que reforça a opinião de que, no caso presente, não existe apendicite aguda.

O que vemos é um exemplo típico de eosinofilia local, ou seja de uma inflamação alérgica. E' muito provável que ela esteja em relação com proteinas estranhas, derivadas do cestódio contido na cavidade do apêndice.

Outra lesão conspícua no nosso material, é o volume considerável das células caliciformes, no epitélio de revestimento e no glandular, e a multiplicação e desarranjo de células do epitélio de revestimento, sugerindo regeneração do mesmo. (Fig. 8). E' mais provável que estas lesões sejam o

resultado da ação mecânica do helminto sôbre a mucosa do apêndice, cuja luz é estreita, em relação ao volume dos proglotes. Contudo, também aqui, as lesões poderiam depender de substâncias derivadas do helminto. A propósito, transcreveremos trechos de um trabalho de GOLDEN (1941), no capítulo sôbre fisiologia da mucosa:

"The physiology of the epithelium of the mucous membrane is very complicated, including both secreting and absorbing functions. The epithelium secretes, among other things and under special conditions, digestive enzymes, water, fat (Sperry & Bloor, 1924; Shapiro, Koster, Rittenberg & Schoenheimer, 1936) and nitrogenous substances (Coffey, Mann & Bollman, 1940). It absorbs all the elements of nutrition including vitamins, water, and many other things. There seems to be general agreement that absorption of fat, carbohydrates, and amino-acids is accomplished largely by means of active participation of epithelial cells (Verzàr & McDougall). Absorption is a vital function of the epithelium and not merely the seepage of dissolved substances into the intestinal wall. Furthermore, chemical changes in the absorbed material take place within the epithelial cells, e. g., the resynthesis of fat from fatty acid and the phosphorylation of absorbed material."

No nosso material, além da inflamação eosinófila existe, de modo discreto, e apenas em raros pontos, uma inflamação crônica, traduzida pela formação esboçada de nódulos linfoides, na túnica peritoneal, pela regeneração do epitélio de revestimento, pela proliferação de fibrocitos, tumefação e multiplicação de células endoteliais dos pequenos vasos, na submucosa.

O fácil deslocamento do cestódio, na luz do apêndice, explica que a inflamação eosinófila seja muito intensa nos fragmentos onde êle atualmente não é encontrado, e, ao contrário, discreta naqueles que o encerram. Nestes, a sua permanência foi, provavelmente, curta e de data recente. Nos fragmentos com pronunciada eosonofilia local, prováveis sedes anteriores do helminto, a luz estreitada do apêndice concorre para afastar o cestódio de tais pontos.

## CONCLUSÕES

Em apêndice vermiforme, retirado de mulher com o diagnóstico clínico suspeito de apendicite, foram encontrados proglotes de *Taenia* (provavelmente *T. saginata* Goeze, 1782), associados ao quadro histopatológico de acentuada eosinofilia local.

A eosinofilia apendicular oferece intensidade variável, conforme a túnica considerada, e o fragmento examinado. E' mais pronunciada na mu-

cosa, sendo que, em certos pontos, os leucocitos eosinófilos se colocam lado a lado, sem interposição de outros elementos, a exemplo de leucocitos neutrófilos em um microabcesso. Na submucosa, a infiltração é, geralmente, difusa, e os eosinófilos largamente separados entre si por tecido normal. Na túnica muscular, a infiltração eosinófila acompanha, mais comumente, os vasos da camada interna de fibras circulares.

Não foram encontradas lesões sugerindo o quadro de apendicite aguda, em qualquer de suas modalidades reconhecidas.

Outras lesões, conspícuas nos fragmentos que contém os proglotes, constam da multiplicação e desarranjo de células epiteliais, sugerindo regeneração do epitélio de revestimento, e, sobretudo, o volume considerável que atingem as células caliciformes, tanto no epitélio de revestimento, como nas glândulas de Lieberkühn.

Aparentemente, o processo apendicular representa uma reação alérgica contra proteinas estranhas nocivas, derivadas do helminto contido na luz do apêndice, e, em menor escala, de células epiteliais destruidas por ação mecânica do cestódio. Fato importante, é que não constitue um processo inflamatório agudo (apendicite aguda).

Contudo, parece que a eosinofilia local (tissular) do apêndice, quando suficientemente intensa, pode dar lugar a sintômas clínicos sugestivos de apendicite aguda.

## SUMMARY

Pathological changes in the vermiform appendix harbouring tapeworm's proglottides are reported.

Marked local (tissue) eosinophilia in the stroma of the mucous coat and to a less degree in the *sub-mucosa* and around the vessels in the inner circular layer of the muscular coat is the essential change observed.

Peculiar changes such as an striking increase in the volume of the mucus-producing goblet-cells either in the epithelium covering the free surface or in the glands of Lieberkühn, as well as new epithelium atypical in form and arrangement were noticed in direct connection and likely induced by the tapeworn as a foreign body (mechanical injury).

The local (tissue) eosinophilia probably represents an anaphylactoid response to foreign proteins originating in the tapeworm.

Acute appendicitis in its recognized varieties such as *appendicitis superficialis catarrhalis, a. s. exulcerans, a. s. haemorrhagica, a. phlegmonosa,* and *a. phlegmonosa-ulcerosa* could be microscopically excluded.

It seems, however, that local (tissue) eosinophilia when particularly widespread is able to give clinical symtoms suggestive of acute appendicitis.

## TRABALHOS CITADOS


ALTEMKAMP, TH.

1935. Akute Appendizitis bei Bandwurm. Münch. Med. Wchrift., 82(1) : 418-419.

ASCHOFF, L.

1908. Die Wurmfortsatzentzündung. Eine pathologisch-histologische und pathogenetische Studie. Jena. Verlag v. G. Fischer.

BOVERI, J. L.

1939. Apendicite aguda produzida por *Taenia saginata*. Bol. Soc. de Cir. de Rosario. 6 : 325-336.

CHRISTELLER, E. & MAYER, E.

1929. Wurmfortsatzentzündung (Appendizitis), *in* HENKE & LUBARSCH : Hand. d. path. Anat. u. Histol., Bd. IV-3 : 469-586.

GIORDANO, F. P. & NICASTRO, M.

1936. Caso de apendicite em infestação por *Taenia*. Semana med., 2 : 1808-1809.

GOLDEN, R.

1941. Abnormalities of the small intestine in nutritional disturbances : some observations on their physiologic basis. Radiology, 36 : 262-286.

HERRICK, W. W.

1913. Experimental eosinophilia with an extract of an animal parasite. Its relation to anaphylaxis and certain clinical problems. Arch. Int. Med., 11 : 165-186.

HUECK, O.

1913. Ueber die pathologische Bedeutung von Helminthen in der Appendix. Frankf. Ztrchrf. f. Path., 13 : 434-474.

MAXIMOW, A. A.

19276. Morphology of the mesenchymal reactions. Arch. of Path., 4 : 557-606.

OPIE, E. L.

1904. An experimental study of the relation of cells with eosinophil granulation to infection with an animal parasite (*Trichina spiralis*). Am. J. M. Sc., 127 : 477-493.

PROSCHER, F. & PAPPENHEIM, A.

1904. Ueber experimentelle Leukocytosen. Fol. Haematol., 1 : 638-642.

PYTEL, A. Y.

1933. Sovetskaya Klinika, 19 : 118-123. Res. *in* Helmintological Abstracts, 1933, 2 : 212.

RINGOEN, A. R.

1938. Eosinophile leucocytes and eosinophilia, *in* DOWNEY : Hand. of Hematology, 1 : 179-230.

# Relatório da sétima excursão científica do Instituto Oswaldo Cruz, realizada á zona da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil, em Maio de 1942 (*)

por

Lauro Travassos e J. F. Teixeira de Freitas

(Com 1 figura no texto)

## I — INTRODUÇÃO

Na presente excursão, prosseguindo no programa das anteriores, realisamos estudos biologicos na zona da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil. Como já expusemos anteriormente, o ponto escolhido foi a Estação de Salobra, no quilômetro 1.137 da Estrada, localidade situada exatamente em região onde confinam "pantanal" e "alto". Procuramos realizar esta excursão em mês diferente do das outras, de modo a obter dados em diversas épocas do ano. Pelo diagrama (Fig. 1) vê-se que apenas os mezes de fevereiro, abril, junho e dezembro não foram observados.

Nas diversas excursões tivemos sempre a preocupação de obter a maior cooperação com outras instituições nacionais; deste modo nossas equipes foram sempre integradas por técnicos de outros institutos de pesquisas, tais como: Departamento de Zoologia da Secretaria de Agricultura do Estado de S. Paulo, Museu Nacional, Instituto Biologico de S. Paulo, Fundação Rockefeller, Instituto de Higiene de S. Paulo, Instituto Nacional de Tecnologia, Universidade de S. Paulo e Departamento de Caça e Pesca do Rio de Janeiro.

Tomaram parte nestas viagens 41 pessoas, entre técnicos e auxiliares. Entre os técnicos especializados existiam helmintologistas, entomologistas, protozoologistas, ictiologistas, herpetologistas, ornitologistas, mamalogistas, médicos e veterinarios; entre os auxiliares contavam-se técnicos de laboratório, taxidermistas, etc.

Procuramos sempre treinar técnicos moços neste tipo de excursão rápida, visando todos os multiplos aspectos biologicos da região, principalmente o

* Recebido para publicação a 28 de abril e dado à publicidade em junho de 1943.

médico, e na qual o trabalho é intensivo e contínuo, prolongando-se muitas vezes até tarde da noite.

Destas pesquisas muito carece o nosso país, tão vasto e tão variavel nos aspectos biologicos, e, infelismente, ainda pouco conhecido. Os estudos desta natureza, no Brasil, teem sido exclusivamente realizados por extrangeiros; somente com o aparecimento de Oswaldo Cruz começaram a ser executados por brasileiros.

A soma de observações e o material coletado nestas sete excursões tornam, sob o ponto de vista biologico, a região de Salobra uma das melhores conhecidas do interior do país. Levando em consideração que nas diversas viagens os dias uteis atingiam, no máximo, o número de 20, ou sejam, cerca de 140 dias, torna-se evidente que não foram poupados os esforços das diversas equipes. Sob o ponto de vista monetario tambem os resultados foram fartamente compensadores. Cada excursão custou cerca de Cr$ 10.000,00, ou sejam Cr$ 70.000,00 nas sete viagens, não levando em conta o imprescindivel auxilio da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil, sem o qual não se poderiam realizar as excursões, o valioso auxílio da Estrada de Ferro Sorocabana e do Exercito Nacional, sob a forma de transportes gratuitos de estrada de ferro, de automovel e de avião.

Para que se possa ter uma idéia concreta do material coletado damos, a seguir, um resumo deste material, incluindo a presente excursão :

| | |
|---|---|
| Animais examinados | 3.038 |
| Esfregaços de orgãos ou sangue | 1.514 |
| Insetos | 55.536 |
| Mamiferos | 183 |
| Aves | 1.041 |
| Repteis | 117 |
| Batraquios | 330 |
| Peixes | 549 |
| Helmintos (amostras) | 2.960 |

Muitos exemplares de outros invertebrados, numerosas amostras botanicas e algumas mineralogicas foram tambem coletadas.

Este abundante material foi incorporado ao patrimonio do Instituto Oswaldo Cruz e ao de outras instituições cientificas do país. Deu ele oportunidade a publicação de cerca de 50 trabalhos, estando muitos outros, ainda, em andamento.

Para a presente excursão partimos do Rio no dia 4 de maio, às 20 horas. Nossa equipe estava constituida do modo seguinte: Lauro Travassos (responsavel), J. F. Teixeira de Freitas, Mario da Silva Ventel e Antonio da Rocha Nobre, do Instituto Oswaldo Cruz; Hugo Laemmert Junior e Gentil

Dutra, da Fundação Rockfeller, e o aprendís de taxidermia Alberto Vianna Pacheco. Em S. Paulo agregaram-se à nossa comitiva: Lauro Travassos Filho, do Departamento de Zoologia da Secretaria de Agricultura, Crodowaldo Pavan e Alexandre Eduardo Dias de Morais, da Faculdade de Filosofia da Universidade de S. Paulo. Tinhamos como objetivo a continuação das observações feitas nas viagens anteriores e ainda coleta de material de gonadas de mamiferos para estudos de citogenetica. Era tambem nossa in-

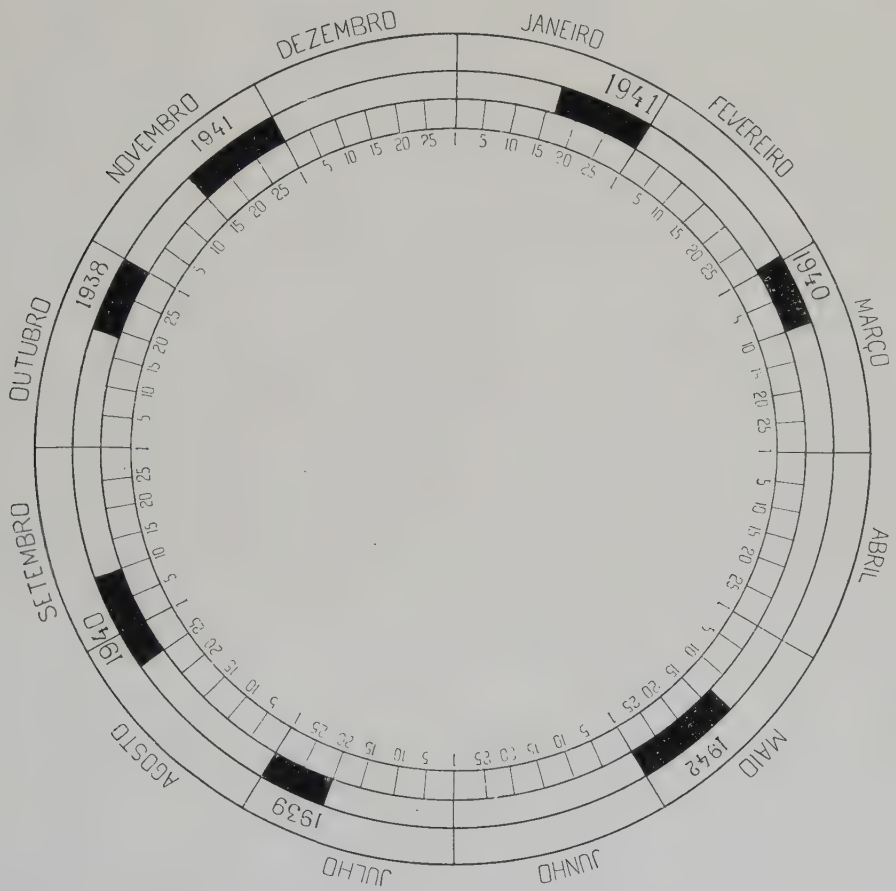



Diagrama demonstrativo das épocas em que o Instituto Oswaldo Cruz tem realizado pesquisas biológicas na região de Salobra.

tenção fazer um inquérito mais amplo sobre a disseminação do mal de cadeiras na região, assunto cuja importancia economica e militar não carece ser exaltada; não obstante termos reunido grande número de animais para inoculações de diagnóstico (1.000 camondongos brancos) este objetivo não foi realizado pela impossibilidade, surgida a última hora, de seguirem na co-

mitiva os técnicos encarregados desta parte do programa. Partimos de São Paulo no dia 6 de maio, às 20,45 horas, amanhecendo no dia seguinte em Baurú. Não foi possivel seguir no mesmo día para Mato Grosso; permanecemos em Baurú até a noite de 8, quando, então, partimos com destino a Três Lagoas. Desta cidade continuamos a viagem com nossos carros ligados a uma composição de carga; devido a varios imprevistos resultou grande atrazo, e, assim, só chegamos a Campo Grande na manhã do dia 12. Neste mesmo dia seguimos para Salobra, ligados ao trem da carreira. Chegamos a Salobra, às 20 horas do dia 12. Na manhã do dia 13 instalamos os laboratórios e iniciamos os trabalhos. No dia 23 regressou o Dr. Hugo Laemmert Junior. No dia 25 ocorreu lamentavel acidente ao Dr. Crodowaldo Pavan, que disparou a propria arma, tendo sido atingido na região parietal direita. Não obstante a gravidade do ferimento, com fratura exposta do parietal, graças ao valioso auxilio da 9.ª Região Militar e de seu competente corpo médico, nosso companheiro já se encontra curado e sem qualquer lesão. No dia 26 um de nós (Lauro Travassos), foi, com o Dr. Lauro Travasso Filho, à propriedade de Miranda Estancia, onde colheram sangue de 22 equideos para inoculação de diagnóstico, todas resultando negativas para mal de cadeiras. A 27 um de nós (J. F. Teixeira de Freitas) seguiu para Campo Grande afim de acompanhar nosso colega ferido, incorporando-se à equipe quando regressamos. No dia 30 incorporou-se a nossa comitiva, em Salobra, o 1.º Tenente médico Dr. Felicio Sacchi. Neste mesmo dia partiu para Corumbá, afim de atender um convite da Direção da Estrada de Ferro Brasil-Bolivia o Dr. Lauro Travassos, que aí teve uma permanencia muito curta, devido a ter de estar de regresso ao Rio a 4 ou 5 de junho. Na tarde do dia 31 saiu de Corumbá e a 1 de junho partiu de Porto Esperança pelo trem da carreira, incorporando-se à comitiva em Salobra, iniciando, então, a viagem de regresso. Chegamos a Baurú pela manhã do dia 3 a à noite em S. Paulo. Na manhã do dia 5 desembarcamos no Rio.

Registramos aquí o grande auxílio da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil, pondo à nossa disposição um carro dormitorio e um breque, bem como as atenções e auxílios que sempre nos dispensou o pessoal da Estrada, pelo que somos gratos. À Estrada de Ferro Sorocabana agradecemos o transporte gracioso dos carros da N. O. B. de S. Paulo a Baurú, ida e volta. Ao Exercito Nacional somos gratos pelo prestigio com que sempre nos cercou e, mais ainda, pelos socorros dispensados a um membro da Comissão gravemente ferido, transportando-o de avião para Campo Grande e aí realizando, pelos médicos, Drs. Ito Mariano da Silva e Manoel Guimarães, a intervenção que tornou possivel seu salvamento.

## RESUMO DO MATERIAL COLETADO

Pesquisas parasitologicas :

| | |
|---|---|
| Animais examinados | 335 |
| Helmintos coletados | 456 |

Serviços médicos :

| | |
|---|---|
| Pessoas examinadas | 65 |
| Medicamentos distribuidos | 59 |
| Exames de fézes | 42 |

Pesquisas zoológicas :

| | |
|---|---|
| Vertebrados coletados | 283 |
| Mamiferos | 50 |
| Aves | 102 |
| Repteis | 9 |
| Batráquios | 1 |
| Peixes | 121 |

Material entomológico :

| | |
|---|---|
| Insetos capturados | 5.006 |
| Orthoptera | 2 |
| Blattariae | 2 |
| Mantodea | 1 |
| Homoptera | 4 |
| *Cicadidae* | 1 |
| *Cicadellidae* | 3 |
| Hemiptera | 65 |
| *Pentatomidae* | 2 |
| *Coreidae* | 11 |
| *Lygaeidae* | 22 |
| *Reduviidae* | 2 |
| *Zelinae* | 2 |
| *Triatomidae* | 13 |

*Psammolestes coreodes* Bergroth, 1911 — Varios exemplares vivos.
*Rhodnius pictipes* Stal, 1872 — 1 ♂, 1 ♀
*Eutriatoma sordida* (Stal, 1859) — 2 ♂ ♂ ; esta espécie foi, agora, encontrada em ninho de *Phacellodomus rufifrons sincipitalis* Cab.

| | |
|---|---|
| *Hydrometridae* | 1 |
| *Belostomatidae* | 14 |
| Odonata | 72 |
| Lepidoptera | 307 |
| Rhopalocera | 197 |
| Heterocera | 110 |
| Diptera | 4.055 |

*Tipulidae* . . . . . 12
*Chironomidae* . . . . . 34
*Culicidae* . . . . . 3.853
*Dixinae* . . . . . 1

*Dixa* (*Paradixa*) sp. — 1 ♀.

*Culicinae* . . . . . 3.852

*Anopheles* (*Anopheles*) *mattogrossensis* Lutz & Neiva, 1911 — 22 ♀ ♀;
*Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *albitarsis* Arribalzága, 1878 — 1.433 ♀ ♀; 1 ♂.
*Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *darlingi* Root, 1926 — 401 ♀ ♀.
*Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *oswaldoi* (Peryassú, 1922) — 329 ♀ ♀; 13 ♂ ♂.
*Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *rondoni* (Neiva & Pinto, 1922) — 6 ♀ ♀.
*Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *triannulatus* (Neiva & Pinto, 1922) — 1.409 ♀ ♀.
*Culex* sp. — 59 ♀ ♀; 3 ♂ ♂.
*Taeniorhynchus* (*Taeniorhynchus*) *humeralis* (Dyar & Knab, 1916) — 196 ♀ ♀.
*Taeniorhynchus* (*Taeniorhynchus*) *indubitans* (Dyar & Shannon, 1925) — 75 ♀ ♀.
*Taeniorhynchus* (*Rhynchotaenia*) *fasciolatus* Arribalzága, 1891 — 1 ♀; 1 ♂.
*Aedeomyia squamipenna* (Arribalzága, 1878) — 2 ♀ ♀.
*Aedes* (*Ochlerotatus*) *scapularis* (Rondani, 1848) — 22 ♀ ♀.
*Psorophora* (*Janthinosoma*) *varipes* (Coquillet, 1904) — 15 ♀ ♀.

*Bombylidae* . . . . . 1
*Asilidae* . . . . . 1

*Mallaphora* sp. — 1 ♂.

*Tabanidae* . . . . . 5

*Lepidoselaga crassipes* Fabr. — 1 ♀.
*Tabanus* (*Neotabanus*) spp. — 4 ♀ ♀.

*Syrphidae* . . . . . 1

*Ornidia* sp. — 1 ♀.

*Muscidae* . . . . . 96

*Ophyra aenescens* Wied. — 26.
*Graphomyia* sp. — 52 ♀ ♀; 1 ♂.
*Fannia* sp. — 1 ♀.

*Calliphoridae* . . . . . 7

*Mesembrinella bicolor* Fabr. — 3 ♀ ♀.
*Hemilucilia segmentaria* Fabr. — 1 ♀.
*Cochliomyia macellaria* Fabr. — muitos exemplares.
*Callitrogopsis* sp. — 1 ♀.
*Lucilia* spp. — 2 ♀ ♀.

| | |
|---|---|
| *Sarcophagidae* | 36 |
| *Sarcodexia sternodontes* Towns. — 2 ♂ ♂ ; 1 ♀ . | |
| *Oxysarcodexia aurifinis* Walk. — 9 ♂ ♂ . | |
| *Oxysarcodexia diana* Lop. — 1 ♂ . | |
| *Adiscochaeta abnormis* End. — 3 ♀ ♀ . | |
| *Ravinia belforti* Prado & Fons. — 3 ♀ ♀ . | |
| *Paraphrissopoda enderleini* Eng. — 2 ♂ ♂ ; 3 ♀ ♀ . | |
| *Paraphrissopoda chrysostoma* Wied. — 3 ♂ ♂ . | |
| *Pattonella* sp. — 3 ♀ ♀ . | |
| *Tachinidae* | 1 |
| *Oestridae* | 2 |
| *Rhopalomeridae* | 1 |
| *Willistoniella pleuropunctata* Wied. — 1 ♂ . | |
| *Pterocallidae* | 1 |
| *Xanthochrona bipustulata* Wulp. — 1 ♀ . | |
| *Pterocalla* sp. — 1 ♀ ; 2 ♂ ♂ . | |
| *Neriidae* | 1 |
| *Micropezidae* | 1 |
| *Hippoboscidae* | 2 |
| Coleoptera | 470 |
| *Cicindelidae* | 1 |
| *Carabidae* | 4 |
| *Hydrophilidae* | 3 |
| *Lampyridae* | 5 |
| *Meloidae* | 4 |
| *Coccinelidae* | 4 |
| *Tenebrionidae* | 247 |
| *Alticidae* | 6 |
| *Cassidae* | 102 |
| *Passalidae* | 3 |
| *Dynastidae* | 54 |
| Diversos | 37 |
| Hymenoptera | 18 |
| *Pepsidae* | 1 |
| *Psamocharidae* | 1 |
| *Formicidae* | 1 |
| *Vespidae* | 7 |
| *Bombidae* | 3 |
| *Apidae* | 5 |

No material entomologico acima discriminado os hemipteros foram determinados por Herman Lent., os culicideos por S. J. de Oliveira e todos os demais por H. de Souza Lopes. Podemos acrescentar a este resumo alguns pseudoescorpiões, ixodideos, malofagos, sifonapteros e 305 aranhas.

## II — PESQUISAS HELMINTOLOGICAS

Para estas pesquisas, realizadas em Salobra, foram autopsiados 335 animais, todos vertebrados, assim distribuidos:

| | | |
|---|---|---|
| Mamiferos | 50 exemplares (13 espécies) | 14,9% |
| Aves | 241 exemplares (90 espécies) | 71,9% |
| Répteis | 11 exemplares ( 8 espécies) | 3,2% |
| Batráquios | 1 exemplar | |
| Peixes | 32 exemplares (14 espécies) | 9,5% |

Os helmintos coletados atingem a 456 amostras, assim distribuidas:

| | |
|---|---|
| Nematódeos | 265 |
| Trematódeos | 67 |
| Cestódeos | 98 |
| Acantocéfalos | 16 |
| Linguatulídeos | 10 |

Dos 335 animais autopsiados 218 se apresentaram parasitados por helmintos, isto é, cerca de 65%. O parasitismo geral por grupo de helmintos foi:

| | | |
|---|---|---|
| Parasitados por nematódeos | 176 exemplares | 52,5 % |
| Parasitados por trematódeos | 63 exemplares | 18,8 % |
| Parasitados por cestódeos | 89 exemplares | 26,5 % |
| Parasitados por acantocéfalos | 16 exemplares | 4,7 % |
| Parasitados por linguatulídeos | 8 exemplares | 2,3 % |

O parasitismo por grupo de helmintos nos grupo de vertebrados foi:

| | | |
|---|---|---|
| Mamíferos | 47 exemplares | 94 % |
| Aves | 140 exemplares | 86,4 % |
| Répteis | 9 exemplares | 81,8 % |
| Batráquios | 0 | |
| Peixes | 22 exemplares | 68,7 % |

O parasitismo por helmintos nos grupos de vertebrados foi:

### Mamíferos

| | | |
|---|---|---|
| Parasitados por nematódeos | 43 exemplares | 91,4 % |
| Parasitados por trematódeos | 9 exemplares | 19,1 % |
| Parasitados por cestódeos | 27 exemplares | 57,4 % |
| Parasitados por acantocéfalos | 5 exemplares | 10,6 % |
| Parasitados por linguatulídeos | 0 | |

Aves

| | | |
|---|---|---|
| Parasitadas por nematódeos ..... | 112 exemplares ..... | 80 % |
| Parasitadas por trematódeos ..... | 46 exemplares ..... | 32,8 % |
| Parasitadas por cestódeos ..... | 51 exemplares ..... | 36,4 % |
| Parasitadas por acantocéfalos ..... | 6 exemplares ..... | 4,2 % |
| Parasitadas por linguatulídeos ..... | 0 | |

Répteis

| | | |
|---|---|---|
| Parasitados por nematódeos ..... | 9 exemplares ..... | 100 % |
| Parasitados por trematódeos ..... | 2 exemplares ..... | 22,2 % |
| Parasitados por cestódeos ..... | 2 exemplares ..... | 22,2 % |
| Parasitados por acantocéfalos ..... | 2 exemplares ..... | 22,2 % |
| Parasitados por linguatulídeos ..... | 2 exemplares ..... | 22,2 % |

Peixes

| | | |
|---|---|---|
| Parasitados por nematódeos ..... | 12 exemplares ..... | 54,5 % |
| Parasitados por trematódeos ..... | 6 exemplares ..... | 27,2 % |
| Parasitados por cestódeos ..... | 8 exemplares ..... | 36,3 % |
| Parasitados por acantocéfalos ..... | 3 exemplares ..... | 13,6 % |
| Parasitados por linguatulídeos ..... | 6 exemplares ..... | 27,2 % |

## LISTA SISTEMÁTICA DOS ANIMAIS AUTOPSIADOS E REFERENCIAS SOBRE SEUS PARASITOS

Na lista que se segue as aves foram determinadas por H. Berla, os répteis por J. Bailey, o batráquio por A. Leitão de Carvalho e os peixes por P. de Miranda Ribeiro.

VERTEBRATA

*MAMMALIA*

PRIMATES

*CEBIDAE*

*Cebinae*

*Cebus azarae Rengg.*

Examinamos quatro exemplares sob os números 9.389, 9.391, 9.393 e 9.394, dos quais três parasitados por nematódeos do gênero *Molineus*, um por espécie do gênero *Physaloptera*, um por filarídeos e um por cestódeos.

CARNIVORA

*PROCYONIDAE*

*Procyoninae*

*Nasua nasua* (L.).

Examinamos cinco exemplares sob os números 9.340, 9.369, 9.384, 9.387 e 9.388, todos parasitados por cestódeos, dois por acantocéfalos, três por nematódeos filarídeos, dois por metastrongilídeos e um por espécie do gênero *Physaloptera.*

*CANIDAE*

*Caninae*

*Cerdocyon thous* (L.)

Examinamos sete exemplares sob os números 9.188, 9.200, 9.243, 9.244, 9.433, 9.434 e 9.435, dos quais quatro parasitados por trematódeos dicrocelídeos, quatro por nematódeos filarídeos, três por tricurídeos, três por ancilostomídeos, dois por fisalopterídeos, um por espécie do gênero *Haemostrongylus,* um por acantocéfalos e todos por cestódeos.

*FELIDAE*

*Felinae*

*Leopardus pardalis* (L.).

Examinamos um exemplar sob o número 9.256, parasitado por cestódeos, acantocéfalos e nematódeos do gênero *Physaloptera.*

*Herpailurus yaguarundi* (Fisch.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.326, parasitado por cestódeos e nematódeos ascarídeos, metastrongilídeos, spirurídeos e strongilídeos.

RODENTIA

MYOMORPHA

*MURIDAE*

Rato (indeterminado)

Examinamos quatro exemplares sob os números 9.319, 9.373, 9.374 e 9.413, dos quais três parasitados por nematódeos tricostrongilídeos e um por oxiurídeos.

*Cercomys cunicularius* (Geoff. & Cuv.).

Examinamos três exemplares sob os números 9.187, 9.356 e 9.432 (*), dos quais um parasitado por cestódeos e outro por nematódeos tricostrongilídeos.

HYSTRICHOMORPHA

*DASYPROCTIDAE*

*Dasyprocta azarae* Rengg.

Examinamos 13 exemplares sob os números 9.157, 9.198, 9.199, 9.222, 9.237, 9.247, 9.250, 9.264, 9.266, 9.293, 9.366, 9.406 e 9.426, dos quais cinco parasitados por cestódeos, oito por nematódeos tricostrongilídeos e oxiurídeos, cinco por espécie do gênero *Trichuris*, dois por spirurídeos, um por strongilídeos e quatro por espécie do gênero *Thelazia*.

UNGULATA

*CERVIDAE*

*Mazama* sp.

Examinamos três exemplares sob os números 9.255, 9.325 e 9.352, dos quais dois parasitados por nematódeos tricostrongilídeos, um por trematódeos paranfistomídeos e um por cestódeos.

EDENTATA

XENARTHRA

*MYRMECOPHAGIDAE*

*Myrmecophaga tridactyla* L.

Examinamos um exemplar sob o número 9.318, parasitado por acantocéfalos e nematódeos oxiurídeos, tricostrongilídeos, filarídeos e fisalopterídeos.

*Tamandua tetradactyla* (L.)

Examinamos dois exemplares sob os números 9.290 e 9.417, ambos parasitados por cestódeos e nematódeos tricostrongilídeos e o segundo ainda por fisalopterídeos.

(*) Moojen det.

LORICATA

*DASYPODIDAE*

*Euphractus sexcinctus* (L.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.107, parasitado por nematódeos tricostrongilídeos, subulurídeos e filarídeos.

MARSUPIALIA

*DIDELPHYIDAE*

*Metachirops opossum* (L.)

Examinamos cinco exemplares sob os números 9.216, 9.239, 9.240, 9.375 e 9.431 dos quais três parasitados por nematódeos fisalopterídeos, dois por cestódeos e quatro por trematódeos do gênero *Rhopalias*.

AVES

TINAMIFORMES

*TINAMIDAE*

*Crypturellus parvirostris* (Wagl.)

Examinamos quatro exemplares sob os números 9.297, 9.305, 9.333 e 9,343, dos quais um parasitado por nematódeos spirurídeos e outro por subulurídeos.

*Crypturellus undulatus undulatus* (Temm.)

Examinamos sete exemplares sob os números 9.187, 9.249, 9.257, 9.270, 9.271, 9.364 e 9.427, todos parasitados por nematódeos do gênero *Heterakis*, três ainda por spirurídeos e dois por cestódeos.

PELECANIFORMES

PELECANI

SULOIDEA

*PHALACROCORACIDAE*

*Phalacrocorax olivaceus olivaceus* (Humb.)

Examinamos quatro exemplares sob os números 9.122, 9.221, 9.231 e 9.382, todos parasitados por nematódeos ascarídeos e o último ainda por cestódeos.

*ANHINGIDAE*

*Anhinga anhinga* (L.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.386, parasitado por nematódeos ascarídeos e outros do gênero *Eustrongylides* e ainda por trematódeos esquistosomídeos.

CICONIIFORMES

ARDEAE

*ARDEIDAE*

*Ardeinae*

*Ardea cocoi* L.

Examinamos dois exemplares sob os números 9.121 e 9.152, sendo o primeiro parasitado por nematódeos ascarídeos e trematódeos clinostomídeos e o segundo por trematódeos opistorquídeos e pela espécie *Ithioclinostomum dimorphum* (Diesing, 1850).

*Butorides striatus striatus* (L.)

Examinamos quatro exemplares sob os números 9.176, 9.204, 9.220 e 9.229, todos parasitados por cestódeos, dois por trematódeos clinostomídeos e opistorquídeos, três por nematódeos ascarídeos e um por filarídeos.

*Casmerodius albus egretta* (Gm.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.383, parasitado por cestódeos, nematódeos ascarídeos e trematódeos clinostomídeos.

*Leucophoyx thula thula* (Molina)

Examinamos um exemplar sob o número 9.280, parasitado por cestódeos.

*Syrigma sibilatrix* (Temm.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.283, parasitado por cestódeos.

*Nycticorax nycticorax hoactli* (Gm.)

Examinamos dois exemplares sob os números 9.135 e 9.156, ambos parasitados por nematódeos ascarídeos e o primeiro ainda por trematódeos opistorquídeos e por acantocéfalos do gênero *Polymorphus*.

*Tigrisoma lineatum marmoratum* (Vieill.)

Examinamos sete exemplares sob os números 9.155, 9.164, 9.230, 9.286, 9.298, 9.303 e 9.304, dos quais quatro parasitados por cestódeos, quatro por nematódeos ascarídeos, um por spirurídeos, dois por trematódeos strigeídeos e um por clinostomídeos.

CICONIAE

CICONIOIDEA

*CICONIIDAE*

*Mycteriinae*

*Mycteria americana* L.

Examinamos dois exemplares sob os números 9.160 e 9.245, sendo o primeiro parasitado por nematódeos dos gêneros *Eustrongylides* e *Capillaria* e o segundo por trematódeos strigeídeos.

*Ciconiinae*

*Euxenura galeata* (Molina)

Examinamos um exemplar sob o número 9.302, parasitado por nematódeos spirurídeos e por trematódeos do gênero *Chaunocephalus*.

*Jabiru mycteria* (Licht.)

Examinamos quatro exemplares sob os números 9.192, 9.307, 9.308 e 9.309, dos quais dois parasitados por nematódeos ascarídeos, dois por trematódeos clinostomídeos e um por espécie do gênero *Stomylotrema*.

THRESKIORNITHOIDEA

*THRESKIORNITHIDAE*

*Threskiornithinae*

*Theristicus caudatus caudatus* (Bodd.)

Examinamos cinco exemplares sob os números 9.191, 9.193, 9.238, 9.241 e 9.284, sendo dois parasitados por cestódeos, dois por trematódeos equinostomídeos e um por espécie do gênero *Stomylotrema*.

*Mesembrinibis cayennensis* (Gm.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.390, parasitado por trematódeos equinostomídeos.

*Phimosus infuscatus nudifrons* (Spix).

Examinamos um exemplar sob o número 9.327, negativo.

*FALCONIFORMES*

FALCONES

FALCONOIDEA

*ACCIPITRIDAE*

*Accipitrinae*

*Heterospizias meridionalis meridionalis* (Lath.)

Examinamos dois exemplares sob os números 9.194 e 9.287, sendo o segundo parasitado por cestódeos e nematódeos ascarídeos.

*Buteoninae*

*Rupornis magnirostris magniplumis* (Bert.)

Examinamos dois exemplares sob os números 9.253 e 9.276, ambos parasitados por acantocéfalos e o primeiro ainda por cestódeos.

*Hypomorphnus urubitinga urubitinga* (Gm.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.108, parasitado por espécie do gênero *Thelazia*.

*Busarellus nigricollis nigricollis* (Lath.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.127, parasitado por cestódeos e nematódeos ascarídeos.

*FALCONIDAE*

*Herpetotherinae*

*Herpetotheres cachinnans queribundus* Bangs & Penard

Examinamos um exemplar sob o número 9.368, parasitado por nematódeos fisalopterídeos.

*Polyborinae*

*Polyborus plancus brasiliensis* (Gm.)

Examinamos cinco exemplares sob os números 9.126, 9.129, 9.254, 9.311 e 9.330, sendo três parasitados por cestódeos, um por acantacéfalos, um por trematódeos strigeídeos, um por nematódeos ascarídeos, um por filarídeos e dois por spirurídeos.

*Falconinae*

*Falco fuscocaerulescens fuscocaerulescens* Vieill.

Examinamos um exemplar sob o número 9.265, negativo.

GALLIFORMES

GALLI

CRACOIDEA

*CRACIDAE*

*Ortalis canicollis pantanalensis* Cher. & Reich.

Examinamos três exemplares sob os números 9.170, 9.274 e 9.416, sendo o segundo parasitado por nematódeos spirurídeos e filarídeos.

*Pipile grayi* (Pelz.)

Examinamos quatro exemplares sob os números 9.180, 9.181, 9.182 e 9.183, sendo o primeiro parasitado por nematódeos e o segundo por espécie do gênero *Tetrameres*.

GRUIFORMES

GRUES

GRUOIDEA

*ARAMIDAE*

*Aramus scolopaceus carau* Vieill.

Examinamos dois exemplares sob os números 9.277 e 9.332, ambos parasitados por trematódeos do gênero *Lyperorchis* e o primeiro ainda por nematódeos spirurídeos.

RALLOIDEA

*RALLIDAE*

*Rallinae*

*Aramides cajanea cajanea* (Muell.)

Examinamos cinco exemplares sob os números 9.177, 9.329, 9.331, 9.336 e 9.381, sendo um parasitado por nematódeos do gênero *Tetrameres* e dois por trematódeos equinostomídeos.

CARIAMAE

*CARIAMIDAE*

*Cariama cristata* (L.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.328, parasitado por cestódeos, trematódeos dicrocelídeos e nematódeos subulurídeos.

CHARADRIIFORMES

CHARADRII

JACANOIDEA

*JACANIDAE*

*Jacana spinosa jacana* (L.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.185, negativo.

CHARADRIOIDEA

*CHARADRIIDAE*

*Vanellinae*

*Belonopterus chilensis lampronotus* (Wagl.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.278, parasitado por cestódeos.

*SCOLOPACIDAE*

*Scolopacinae*

*Capella paraguaiae paraguaiae* (Vieill.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.279, parasitado por trematódeos ciclocelídeos

COLUMBIFORMES

COLUMBAE

*COLUMBIDAE*

*Columba rufina sylvestris* Vieill.

Examinamos cinco exemplares sob os números 9.109, 9.149, 9.223, 9.224 e 9.246, sendo o primeiro parasitado por nematódeos do gênero *Ornithostrongylus.*

*Columbigallina talpacoti talpacoti* (Temm.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.203, negativo.

*Leptoptila verreauxi ochroptera* (Pelz.)

Examinamos 32 exemplares sob os números 9.112, 9.136, 9.137, 9.153, 9.154, 9.161, 9.226, 9.228, 9.234, 9.235, 9.236, 9.267, 9.268, 9.291, 9.346, 9.348, 9.349, 9.350, 9.351, 9.357, 9.358, 9.359, 9.360, 9.361, 9.362, 9.363, 9.370, 9.371, 9.377, 9.423, 9.424 e 9.425, sendo sete parasitados por cestódeos, seis por trematódeos do gênero *Leucochloridium,* um por espécie do gênero *Opisthogonimus* e 25 por nematódeos do gênero *Ornithostrongylus.*

*Scardafella squammata squammata* (Less.)

Examinamos dois exemplares sob os números 9.138 e 9.322, sendo o segundo parasitado por nematódeos ascarídeos.

CUCULIFORMES

CUCULI

*CUCULIDAE*

*Piaya cayana macroura* Gambel

Examinamos quatro exemplares sob os números 9.259, 9.334, 9.335 e 9.367, sendo três parasitados por cestódeos, um por trematódeos do gênero *Prosthogonimus,* dois por nematódeos subulurídeos e todos por spirurídeos.

*Crotophaga ani* (L.)

Examinamos dois exemplares sob os números 9.159 e 9.337, sendo o primeiro parasitado por cestódeos e nematódeos spirurídeos e o segundo por subulurídeos.

*Guira guira* (Gm.)

Examinamos dois exemplares sob os números 9.321 e 9.323, ambos parasitados por nematódeos spirurídeos, um por cestódeos, um por subulurídeos e trematódeos equinostomídeos.

PSITTACIFORMES

*PSITTACIDAE*

*Anodorhynchus hyacinthinus* (Lath.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.263, negativo.

*Propyrrhura auricollis* (Cass.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.202, negativo.

*Aratinga aurea aurea* (Gm.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.210, negativo.

*Pyrrhura borelli* Salv.

Examinamos um exemplar sob o número 9.165, negativo.

*Tirica chiriri* (Vieill.)

Examinamos três exemplares sob os números 9.218, 9.219 e 9.232, negativos.

*Amazona aestiva* (L.)

Examinamos três exemplares sob os números 9.114, 9.115 e 9.168, negativos.

STRIGIFORMES

*STRIGIDAE*

*Otus choliba decussatus* (Licht.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.420, negativo.

CAPRIMULGIFORMES

CAPRIMULGI

*CAPRIMULGIDAE*

*Nyctidromus albicollis derbyanus* Gould.

Examinamos um exemplar sob o número 9.353, parasitado por nematódeos spirurídeos e subulurídeos.

MICROPODIIFORMES

TROCHILI

*TROCHILIDAE*

*Eupetomena macroura macroura* (Gm.)

Examinamos dois exemplares sob os números 9.178 e 9.355, negativos.

TROGONIFORMES

*TROGONIDAE*

*Trogonurus variegatus behni* (Gould).

Examinamos três exemplares sob os números 9.189, 9.196 e 9.206, todos parasitados por nematódeos subulurídeos e o primeiro ainda por cestódeos.

CORACIIFORMES

ALCEDINES

ALCEDINOIDEA

ALCEDINIDAE

*Megaceryle torquata torquata* (L.)

Examinamos seis exemplares sob os números 9.117, 9.119, 9.120, 9.162, 9.225 e 9.252, sendo três parasitados por nematódeos filarídeos, um por trematódeos clinostomídeos, um por *Pulchrosoma pulchrosoma* Travassos, 1916.

*Chloroceryle amazona* (Lath.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.150, negativo.

PICIFORMES

GALBULAE

RAMPHASTOIDEA

*RAMPHASTIDAE*

*Ramphastos toco* Muell.

Examinamos um exemplar sob o número 9.208, negativo.

PICI

*PICIDAE*

*Piculus chrysochlorus chrysochlorus* (Vieill).

Examinamos dois exemplares sob os números 9.285 e 9.300, negativo.

*Celeus lugubris* (Malh.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.130, parasitado por cestódeos e nematódeos spirurídeos.

*Ceophloeus lineatum lineatum* (L.)

Examinamos quatro exemplares sob os números 9.131, 9.139, 9.146 e 9.147, sendo três parasitados por cestódeos, dois por nematódeos spirurídeos e um por filarídeos.

*Veniliornis passerinus olivinus* (Malh.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.260, negativo.

PASSERIFORMES

TYRANNI

FURNARIOIDEA

*DENDROCOLAPTIDAE*

*Xiphocolaptes major castaneus* Ridg.

Examinamos um exemplar sob o número 9.233, negativo.

*Lepidocolaptes angustirostris bivittatus* (Licht.)

Examinamos dois exemplares sob os números 9.209 e 9.213, negativos.

*FURNARIIDAE*

*Furnariinae*

*Furnarius rufus commersoni* Pelz.

Examinamos dois exemplares sob os números 9.145 e 9.281, negativos.

*Phacellodomus rufifrons sincipitalis* Cab.

Examinamos um exemplar sob o número 9.212, negativo.

*FORMICARIIDAE*

*Formicariinae*

*Taraba major major* (Vieill.)

Examinamos quatro exemplares sob os números 9.195, 9.338, 9.339 e 9.347, sendo o primeiro parasitado por nematódeos do gênero *Tetrameres*.

*TYRANNIDAE*

*Taeniopterinae*

*Xolmis irupero irupero* (Vieill.)

Examinamos dois exemplares sob os números 9.402 e 9.403, negativos.

*Xolmis velata* (Licht.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.242, negativo.

*Platyrhynchinae*

*Euscarthmornis margaritaceiventer margaritaceiventer* (Lafr. & d'Orb.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.105, negativo.

*Elaeniinae*

*Elaenia viridicata viridicata* (Vieill.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.282, negativo.

*Myiozetetes cayanensis cayanensis* (L.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.251, negativo.

*Pitangus sulphuratus maximiliani* (Cab. & Heine).

Examinamos um exemplar sob o número 9.316, parasitado por nematódeos spirurídeos.

*Tyranninae*

*Megarhynchus pitangua pitangua* (L.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.128, parasitado por nematódeos do gênero *Tetrameres*.

*Pyrocephalus rubinus rubinus* (Bodd.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.405, negativo.

*Myiachus ferox australis* Hellm.

Examinamos cinco exemplares sob os números 9.171, 9.172, 9.173, 9.207 e 9.313, negativos.

*Myiarchus tyrannulus chlorepiscius* Berl. & Leverk.

Examinamos um exemplar sob o número 9.315, negativo.

*PIPRIDAE*

*Piprinae*

*Antilophia galeata* (Licht.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.167, negativo.

*COTINGIDAE*

*Tityrinae*

*Tityra inquisitor pelzelni* Salv. & Godm.

Examinamos um exemplar sob o número 9.385, negativo.

*Attilinae*

*Casiornis rufa* (Vieill.)

Examinamos dois exemplares sob os números 9.158 e 9.214, sendo o segundo parasitado por cestódeos.

*TURDIDAE*

*Turdus rufiventris rufiventris* (Vieill.)

Examinamos quatro exemplares sob os números 9.111, 9.190, 9.205 e 9.380, sendo três parasitados por nematódeos spirurídeos, um por cestódeos, um por trematódeos dicrocelídeos e um por espécie do gênero *Prosthogonimus*.

*MNIOTILTIDAE*

*Basileuterus hypoleucus* Bonap.

Examinamos um exemplar sob o número 9.395, negativo.

*THRAUPIDAE*

*Thraupis sayaca sayaca* (L.)

Examinamos cinco exemplares sob os números 9.141, 9.143, 9.262, 9.294, e 9.312, dos quais um parasitado por nematódeos filarídeos.

*Tanagra chlorotica serrirostris* (Lafr. & d'Orb.)

Examinamos dois exemplares sob os números 9.344 e 9.345, negativos.

*Nemosia pileata paraguayensis* Chubb.

Examinamos três exemplares sob os números 9.317, 9.341 e 9.342, sendo o primeiro parasitado por nematódeos do gênero *Tetrameres*.

*Rhamphocoelus carbo cargo* (Pall.)

Examinamos três exemplares sob os números 9.299, 9.418 e 9.419, sendo o segundo parasitado por nematódeos filarídeos e trematódeos dicrocelideos e o terceiro por eucotilídeos.

*Eucometis penicillata albicollis* (Lafr. & d'Orb.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.392, negativo.

*FRINGILLIDAE*

*Saltator coerulescens coerulescens* Vieill.

Examinamos quatro exemplares sob os números 9.116, 9.201, 9.272 e 9.273, negativos.

*Arremon flavirostris devillei* Des Murs.

Examinamos dois exemplares sob os números 9.102 e 9.292, negativos.

*Coryphospingus cucullatus rubescens* (Swains.)

Examinamos dois exemplares sob os números 9.184 e 9.215, negativos.

*Paroaria capitata* (Lafr. & d'Orb.)

Examinamos três exemplares sob os números 9.175, 9.275 e 9.421, negativos.

*ICTERIDAE*

*Agelainae*

*Molothrus badius badius* (Vieill.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.314, negativo.

*Sturnellinae*

*Xanthornus decumanus maculosus* (Chapm.)

Examinamos quatro exemplares sob os números 9.144, 9.248, 9.258 e 9.372, todos parasitados por nematódeos filarideos, dois por spirurídeos e três por cestódeos.

*Icterus cayanensis pyrrhopterus* (Vieill.)

Examinamos cinco exemplares sob os números 9.134, 9.142, 9.295, 9.296 e 9.310, sendo o primeiro parasitado por nematódeos filarídeos, o terceiro por trematódeos eucotilídeos e cestódeos, e o quarto por dicrocelídeos.

*CORVIDAE*

*Cyanocorax chrysops* (Vieill.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.211, parasitado por nematódeos spirurideos e filarídeos.

*Cyanocorax cyanomelas* (Vieill.)

Examinamos 11 exemplares sob os números 9.101, 9.103, 9.104, 9.110, 9.113, 9.140, 9.148, 9.151, 9.169, 9.174 e 9.217, dos quais seis parasitados por nematódeos spirurídeos, quatro por filarídeos, três por cestódeos, um por trematódeos dicrocelídeos, um por espécie do gênero *Prosthogonimus* e outro pela espécie *Episthmium oscari* Travassos, 1922, que tem assim sua lista de hospedadores acrescida de mais uma ave, já agora passeriforme.

*REPTILIA*

OPHIDIA

*Leptodeira* sp.

Examinamos um exemplar sob o número 9.166, negativo.

*Philodryas* sp.

Examinamos um exemplar sob o número 9.320, parasitado por cestódeos, por nematódeos do gênero *Physaloptera* e por trematódeos do gênero *Opisthogonimus*.

*Thamnodinastes* sp.

Examinamos um exemplar sob o número 9.354, negativo.

*Dryadophis bifossatus triseriatus* (Amaral)

Examinamos um exemplar sob o número 9.261, parasitado por nematódeos strongilídeos, por larvas de acantocéfalos e por trematódeos dos gêneros *Opisthogonimus* e *Renifer*.

*EMYDOSAURIA*

*Caiman yacaré* (Daud.)

Examinamos três exemplares sob os números 9.106, 9.227 e 9.415, todos parasitados por nematódeos filarídeos, dois por ascarídeos, dois por linguatulídeos e um por acantocefalos.

LACERTILIA

*Ameiva* sp.

Examinamos um exemplar sob o número 9.306, parasitado por nematódeos do gênero *Physaloptera*.

*Tupinambis teguixin* (L.)

Examinamos dois exemplares sob os números 9.288 e 9.289, ambos parasitados por nematódeos ascarídeos e por espécie do gênero *Physaloptera* e o segundo ainda por strongilídeos.

*Polychrus acutirostris* Spix.

Examinamos um exemplar sob o número 9.269, parasitado por nematódeos do gênero *Physaloptera* e por oxiurídeos.

AMPHIBIA

*HYLIDAE*

*Hyla rubra* Daud.

Examinamos um exemplar sob o número 9.163, negativo.

PISCES

*DASYATIDAE*

*Ellipesurus motoro* (Muell. & Henl.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.365, parasitado por cestódeos, linguatulídeos e nematódeos ascarídeos.

*CHARACINIDAE*

*Astyanax fasciatus* (Cuv.)

Examinamos quatro exemplares sob os números 9.398, 9.399, 9.404 e 9.422, negativos.

*Hoplerythrynus unitaeniatus* (Spix).

Examinamos três exemplares sob os números 9.123, 9.124 e 9.125, todos parasitados por acantocefalos e o primeiro tambem por cestódeos.

*Hoplias malabaricus* (Block.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.379, parasitado por nematódeos.

*Salminus maxillosus* Cuv. & Val.

Examinamos três exemplares sob os números 9.118, 9.428 e 9.430, todos parasitados por nematódeos ascarídeos; os dois primeiros tambem por linguatulídeos e o primeiro ainda por trematódeos.

*Triportheus paranensis* (Gunth.)

Examinamos dois exemplares sob os números 9.132 e 9.133, negativos.

*Tetragonopterus argenteus* (Cuv.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.324, parasitado por nematódeos.

*Myletes* sp.

Examinamos cinco exemplares sob os números 9.407, 9.408, 9.411, 9.412 e 9.429, dos quais um parasitado por nematódeos do gênero *Rondonia*, dois por espécie do gênero *Spectatus* e quatro por trematódeos paranfistomídeos.

*SILURIDAE*

*Pimelodus clarias* (L.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.401, parasitado por cestódeos e nematódeos ascarídeos.

*Paulicea lutkeni* Steind.

Examinamos dois exemplares sob os números 9.301 e 9.414, ambos parasitados por cestódeos; o primeiro ainda por linguatulídeos e o segundo por trematódeos clinostomídeos.

*Steindachneria ? parahybae* (Steind.)

Examinamos dois exemplares sob os números 9.186 e 9.376, ambos parasitados por nematódeos cuculanideos e linguatulídeos, e o primeiro ainda por cestódeos.

*Hemisorubim platyrhynchus* (Cuv. & Val.)

Examinamos um exemplar sob o número 9.400, parasitado por cestódeos.

*Brachyplatystoma* sp.

Examinamos dois exemplares sob os números 9.409 e 9.410, ambos parasitados por linguatulídeos e o primeiro ainda por cestódeos.

*CICHLIDAE*

*Aequidens dimerus* (Heck.)

Examinamos quatro exemplares sob os números 9.179, 9.378, 9.396 e 9.397, negativos.

# Associação entre Mallophaga e Hippoboscidae (*)

por

Charles R. Hathaway

(Com 2 figuras no texto)

Trabalhavamos no laboratório com um pombo, quando observamos e capturamos uma mosca que voara de entre suas penas.

Nesta, encontramos, agarrados ao abdomen, sete exemplares de um malofago.

Recorrendo à bibliografia, averiguámos que esse fenomeno biologico era conhecido por varios autores.

Embora não se trate de novidade cientifica, achamos de interesse juntar nossa observação às já assinaladas.

Thompson (1934), tratando do assunto firma a prioridade de verificação para Aubé (1857), cuja observação ficára em completo esquecimento:

> "When cataloging the references to lice found attached to Hippoboscidae, etc., I came across a recorded which appears to have been overlooked by previous workers. Aubé (1857) records the finding of two Mallophaga belonging to a species normally found on the Magpie (Pica pica pica Lin.) attached to the abdomen of an Ornithomyia which was obtained from a Magpie. The Ornithomya was in all probability avicularia Lin.
>
> This record is of great interest since it is the first recorded instance of the association."

Eis o que disse Aubê :

> "J'apporte aujourd'hui un nouveau fait qui donne beaucoup de valeur à mon opinion et qui mérite, sous plus d'un rapport, de fixer l'attention des naturalistes. Je veux parler d'une Muscide du genre *Ornithomyia* sur l'abdomen de laquelle vous pouvez observer encore deux Anoplures que vivent ordinairement sur la Pie. Cette Ornithomyie a été prise sur un de ces oiseaux affecté de

* Recebido para publicação a 30 de abril e dado à publicidade em junho de 1943.

Phthiriasis et tout me porte à croire qu'il est dans le rôle de la Muscide transporter le parasite sur d'autres Pies, qui seraint dans dispositions patrologiques necéssaires à l'existence, à leurs dépens, de cette espèce de pou."

Fig. 1 — Pseudolynchia canariensis Macquart (Foto J. Pinto).

Fig. 2 — Columbicola columbae (Macho e femea) (Fotos J. Pinto).

Como se vê, Aubé fala de uma *Ornithomyia* carregando dois anopluros que vivem ordinariamente na "pêga".

Como os anopluros não vivem em ave, é de supor que a mosca antes de pousar na "pêga" houvesse estado em contato com um mamifero, a menos que Aubé tivesse confundido os anopluros com malofagos, apesar de naquela época, já terem sido separadas Anoplura e Mallophaga em ordens distintas.

Aliás o fato de Aubé falar em Phthiriasis reforça nossa opinião.

Lesne (1896), em seu trabalho, depois de algumas considerações sobre o parasitismo entre os dipteros, quase no final da publicação assim se exprime:

> "Van Beneden a parfaitment caractérisé le parasitisme et commensalisme. Tout en reconnaissant que le mutualisme se présente sous des formes variées, il n'a peut-être pas suffisamment défini ces dernières. Pour ce qui a trait aux phénomènes de transport proprement dits, ils méritent d'être distingués et une dénomination spèciale paraît nécessaire pour les désigner. Nous appellerons *phorésie* l'ensemble des phénomènes de transport proprement dits, c'est-à-dire ceux dans lesques l'animal transporté se sert du porteur uniquement comme d'un véhicule. Arrivés à destination, les deux animaux n'ont plus de rapports entre eux."

Assim Lesne criou o termo "foresia" para o fenômeno do transporte de um inseto por outro, perfeitamente aplicavel ao nosso caso.

Damos abaixo, a lista cronologica dos vários casos que pudemos encontrar na literatura de hipoboscideos carregando malofagos.

Deixamos aqui os nossos agradecimentos ao Dr. F. L. Werneck, não só pela identificação do malofago como pelo interesse demonstrado pela publicação deste artigo.

## LISTA CRONOLOGICA DAS OBSERVAÇÕES DE HIPOBOSCÍDEOS CARREGANDO MALÓFAGOS

| ANO | AUTOR | AVE | HIPPOBOSCIDAE | MALLOPHAGA | LOCALIDADE | OBSERVAÇÕES |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1890 | Sharp | — | *Ornithomyia avicularia* | — | Dartford, Inglaterra | — |
| 1903 | Forsius | *Tetrao tetrix* | *Ornithomyia avicularia* | *Degeeriella quadratula* | Finlandia | 1 exemplar de malofago |
| 1908 | Forsius | — | *Ornithomyia avicularia* | *Degeeriella mimosa* | Finlandia | 2 exemplares de malofagos |
| 1910 | Warnach | — | *Ornithomyia avicularia* | *Philopterus sp* | — | — |
| 1910 | Mjoberg | — | *Ornithomyia avicularia* | *Decophorus leontodon* | — | 7 exemplares de malofagos |
| 1910 | Mjoberg | — | *Ornithomyia avicularia* | *Decophrus leontodon* | | 3 exemplares de malofago |
| 1911 | Jacobson | *Eucichla cyanura* | *Ornithoeca pusilla* | — | — | — |
| 1913 | Harrison | *Strepera versicolor* | — | *Degeeriella sp.* | — | 14 exemplares de malofagos |
| 1913 | Harrison | *Sericulus chrysocephalus* | — | *Degeeriella hectiva* | Nambuca River | 1 exemplar de malofago |
| 1920 | Banks | — | *Ornithomyia sp.* | — | — | 2 exemplares de malofagos |
| 1922 | Johnson | *Perisoeus barbouri* | *Ornithomyia anchineuria* | — | Anticosti, Islands | — |
| 1922 | McAtee | — | *Ornithomyia avicularia* | *Degeeriella rotundata* | Lake, Athabasca | — |
| 1922 | McAtee | *Corvus brachyrhynchus hesperis* | *Ornithomyia avicularia* | *Degeeriella rotundata* | Ontario, Oregon | — |
| 1927 | Ewing | *Melospiza melodia melodia* | *Ornithomyia avicularia* | *Degeeriella interposita* | Gates Mills, Ohio | |
| 1927 | Ewing | *Dumetella carolinensis* | *Ornithomyia avicularia* | *Degeeriella interposita* | Gates Mills, Ohio | 1 exemplar de malofago |
| 1928 | Warburton | — | *Ornithomyia avicularia* | *Degeeriella marginalis* | Cambridge, University | 12 exemplares de malofagos |
| 1928 | Spencer | *Cyanocitta s. stelleri* | *Ornithomyia avicularia* | *Degeeriella deficiens* | Tofino, Clayoquot | 16 exemplares de malofagos |
| 1933 | Thompson | — | *Ornithomyia avicularia* | *Degeeriella marginalis* | Vicarage Garde, Herts | 3 exemplares de malofagos |
| 1933 | Thompson | — | *Ornithomyia avicularia* | *Degeeriella marginalis* | Surrey, Woking | 11 exemplares de malofagos |
| 1934 | Martin | — | *Pseudolynchia maura* | *Columbicola columbae* | — | 3 exemplares de malofagos |
| 1934 | Thompson | *Sturnos v. vulgaris* | *Ornithomyia avicularia* | *Philopterus sturni* | Olaberry, Shetland Is. | — |
| 1934 | Thompson | — | *Ornithomyia avicularia* | *Degeeriella marginalis* | Skirwith, Cumberland | |

| ANO | AUTOR | AVE | HIPPOBOSCIDAE | MALLOPHAGA | LOCALIDADE | OBSERVAÇÕES |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1935 1936 | Thompson | *Pyromelana orix nigrifon* | *Lynchia sp.* | *Phylopterus sp.* | Kamamiola, Congo Belga | — |
| 1935 1936 | Thompson | *Turdus pilaris* | *Ornithomyia chloropus* | *Degeeriella marginalis* | Karlsham, Sweden | — |
| 1935 1936 | Thompson | *Halcyon juliae* | *Ornitheza metalica* | *Degeeriella sp.* | New Hebrides, Espirutu Santo. | — |
| 1935 1936 | Thompson | — | *Lynchia botaurinorum* | *Ardeicola botauri* | Orizaba, Mexico | 5 exemplares de malofagos |
| 1935 1936 | Thompson | — | *Ornitheza metallica* | *Degeeriella sp.* | Queensland, Australia | 2 exemplares de malofagos |
| 1935 1936 | Thompson | *Turdus m. merula* | *Ornithomyia fringillina* | *Degeeriella marginalis* | Dumbarton, Scotland | — |
| 1935 1936 | Thompson | *Melospiza m. melodia* | *Ornithomyia fringillina* | *Degeeriella sp.* | Mass., U. S. A. | 2 exemplares de malofagos |
| 1935 1936 | Thompson | *Turdus migratorius* | *Ornithomyia fringillina* | *Degeeriella simplex* | N. Y., U. S. A. | 2 exemplares de malofagos |
| 1935 1936 | Thompson | *Casmerodius albus egretta* | *Lynchia americana* | *Esthiopterum botauri* | Harston, Pennsylvania | — |

## BIBLIOGRAFIA CITADA


AUBÉ

1857. Nota.
Bull. Soc. Ent. Fr., ser. 3, tom. 5, clviii-clix.

LESNE. P.

1896. Moeurs du Limosina sacra Meig.
Bull. Soc. Ent. France, 162-165.

THOMPSON, G. B.

1934. The parasites of British Birds and Mammals, I. Notes and records.
Ent. Mon. Mag., 70 : 133-136.

# O automatismo do segmento de intestino delgado dos mamíferos

por

Antonio Augusto Xavier

(Com cinco figuras no texto)

Quando se observa uma preparação de intestino delgado de mamífero, isolado e em perfusão, podemos distinguir nela, do ponto de vista estrito da fisiologia de tecido, dois fenômenos distintos : 1) o segmento de intestino mantem um certo gráu de tonus, não obstante sua separação do sistema nervoso autônomo, simpático e parassimpático; 2) o músculo contrái-se e se relaxa sem descontinuar. Essas contrações fazem-se de modo rítmico e são automáticas.

Devemos discriminar, então, no segmento de intestino isolado e perfundido, duas propriedades ou funções elementares: de uma parte, a tonicidade do músculo, condicionando um tonus de posição do segmento de intestino; de outra parte, uma função periódica e contínua que caracteriza uma atividade rítmica automática.

O tonus da preparação parece depender em última instância da própria fibra muscular lisa, desde que o preparado não mantem conexões com fibras nervosas do simpático ou do parassimpático, nem o tonus desaparece em preparações extremes de células nervosas do plexo de AUERBACH (preparações enervadas). Alguns autores levam mais longe a análise e admitem seja o tonus uma função da porção não específica da fibrila muscular — o sarcoplasma.

Não entraremos no momento na discussão deste problema, deixando para publicação ulterior o exame mais detalhado da questão. Em todo caso o tonus do músculo mostra-se inteiramente independente da atividade rítmica automática, o que pode ser demonstrado fàcilmente mercê de certas drogas que atuam de preferência sobre o tonus da preparação e deixam inalterada a sua atividade fásica. (Figs. 1 e 2).

* Recebido para publicação a 21 de maio e dado à publicidade em junho de 1943.

Demonstrada a independência das duas funções elementares do segmento de intestino, e referida, embora de modo sucinto, a questão relativa ao tonus do músculo; assinalado, no mesmo passo, o substrato que lhe é atributo, é o momento agora de estudar um pouco mais detidamente o problema do automatismo rítmico da preparação de intestino, procurando esclarecer qual seja a estrutura anatômica servindo de substrato a essa função.

Fig. 1 — Preparação de intestino de coelho, isolado e suspenso em líquido de Tyrode. Aumento subito do tonus consequente à adição de filtrado de cultura de bacilo coli ao banho perfundente. Persistência das oscilações fásicas. Tempo = 1 minuto. (Segundo Xavier & Pacheco, 1938).

A atividade rítmica automática do intestino tem sido explicada, pelos experimentadores que do problema se teem ocupado, como filiando-se a origem neurogênica segundo uns, a origem miogênica segundo outros. Não é aquí a ocasião propícia para referir pormenarizadamente estes trabalhos, o que viria alongar sobremaneira este escrito e tirar-lhe o feitio, que lhe cabe, de uma comunicação preliminar: porisso, mencionaremos tão só o que for essencial para a inteligência do assunto em estudo, deixando para uma outra e melhor oportunidade a revisão crítica da literatura em apreço.

Coube a MAGNUS (1904) ter estabelecido a noção fundamental, ser a atividade rítmica do intestino uma função automática, não obedecendo a nenhum mecanismo reflexo. Deve-se a MAGNUS, alem disso, o conceito de que os elementos nervosos de plexo de AUERBACH fossem a estrutura de que dependensse a atividade automática do intestino.

A hipótese de MAGNUS fundamenta-se em resultados obtidos com preparações de músculo circular do intestino, de execução delicada e exigindo alguma habilidade manual. Como é sabido, os elementos constituindo o plexo de AUERBACH dispõem-se entre as duas camadas musculares do intestino delgado, a camada de fibras longitudinais e a camada de fibras circulares. Por isso mesmo é ele chamado plexo mientérico. A técnica de MAGNUS consiste simplesmente em retirar a camada externa de fibras longitudinais do segmento tubular de intestino delgado por meio de uma agulha histológica de ponta romba. O músculo circular assim obtido é então suspenso, da maneira habitual, num líquido de RINGER e preso a uma alavanca inscritora capaz de ampliar o encurtamento do músculo.

Mas não basta retirar a camada de fibras longitudinais. Para maior segurança, depois de despojar o intestino de sua bainha externa, MAGNUS (1905) destruia com um cristal de nitrato de prata as celulas nervosas do plexo de AUERBACH porventura aderentes à camada de fibras circulares.

Com esta *preparação enervada* (*plexusfreie Präparate*), e que não apresenta atividade rítmica, procurou MAGNUS demonstrar serem justamente as células do plexo de AUERBACH os elementos de que dependiam as contrações rítmicas do intestino. Veremos adiante que a preparação de músculo circular, feita com técnica adequada, apresenta ainda movimentos rítmicos.

Este processo de destruir com cristal de nitrato de prata as células e as fibras nervosas remanescentes do plexo de AUERBACH não é, sem sombra de dúvida, dos mais inofensivos para as células musculares lisas da camada de fibras circulares. Porisso os continuadores de MAGNUS adotaram depois uma técnica mais precisa e não acarretando os inconveniente da destruição das próprias células musculares lisas e estruturas outras da musculatura circular. (GUNN e UNDERHILL, 1915; VAN ESVELD, 1928). Depois de retirada a camada de fibras longitudinais e com ela os elementos do plexo de AUERBACH, a camada de fibras circulares é despojada de suas fibras mais superficiais, usando-se agora uma fina agulha de histologia de ponta acerada, de modo a se ter uma estrutura puramente muscular, isenta de elementos nervosos.

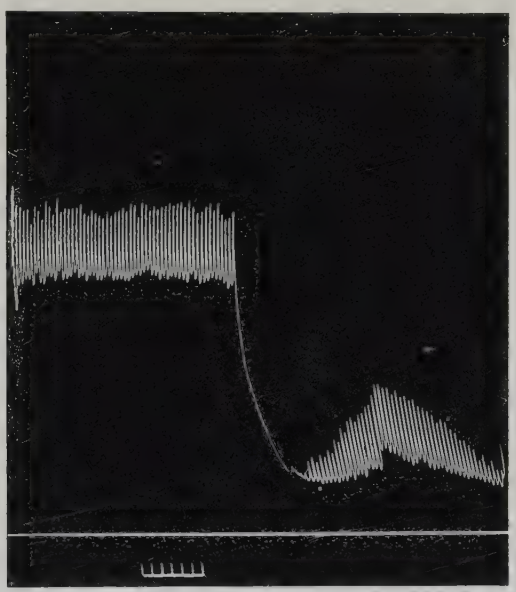


Fig. 2 —Intestino de coelho, isolado e perfundido. Depressão brusca do tonus da preparação. Persistência das oscilações rítmicas. Tempo = 1 minuto.

Trabalhámos, tambem, com preparações enervadas. Na realidade nunca se pode ter uma segurança absoluta de que na preparação assim enervada não existam células nervosas: e quasi sempre uma verificação histológica minuciosa vem demonstrar a existência de elementos do plexo de AUERBACH, e de maneira constante, póde-se dizer as chamadas células intersticiais de RAMON Y CAJAL.

Demonstrada a impossibilidade de se chegar a uma conclusão incontrastável com a técnica proposta por MAGNUS, pensamos pudesse ser esse problema resolvido com a utilização de preparações de intestino em revivescência.

O intestino mantido em condições convenientes, mostra atividade rítmica automática mesmo ao cabo de 6-8 dias, e reage a diferentes estímulos químicos do mesmo modo que uma preparação recente, muita vez exibindo um gráu maior de sensibilidade. (Fig. 3).

Conhecidos estes fatos, torna-se dificil aceitar sem mais acurado exame possam células nervosas, como sóem ser as plexo de AUERBACH, tão frágeis como tôdas as células nervosas, resistir a um período assim longo de sobrevida.

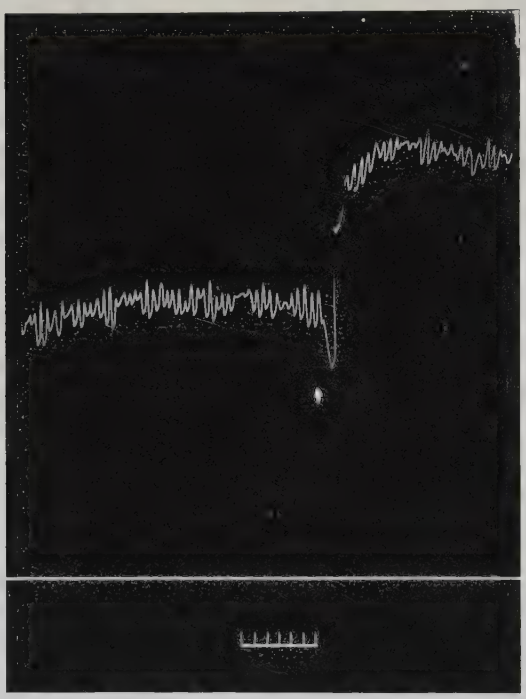


Fig. 3 — Segmento de intestino de coelho, isolado e perfundido. Intestino em revivescência, após um período de latência de 5 dias. Persistência das contrações rítmicas. Aumento brusco do tonus. Tempo = 1 minuto.

Chegamos desse modo à convicção da existência de um substrato específico para o exercício da atividade automática do segmento de intestino. Este sentimento da necessidade de um tecido específico servindo de substrato para o automatismo rítmico do intestino delgado, levou-nos imediatamente a pensar numa estrutura especial, certamente homóloga daquela que existe no coração dos vertebrados. Já em 1915 ARTHUR KEITH se impressionara com o mesmo fato, e em trabalhos que passaram até agora inteiramente despercebidos, chamou para esse problema a atenção do pesquisadores. Nesses trabalhos KEITH empresta às células do plexo de AUERBACH a significação de um verdadeiro tecido específico para a atividade rítmica do intestino. Entretanto, como parece óbvio, à vista dos resultados obtidos com as experiências de revivescência do segmento de intestino, ás células nervosas do plexo de AUERBACH não deve ser atribuida a atividade rítmica automática da preparação de intestino em perfusão.

A que elementos se poderá então atribüir o automatismo rítmico do intestino ? Á própria fibra muscular contractil, desde que, como vimos, parece demonstrada experimentalmente a independência das duas funções, competindo ao sarcoplasma, uma função diferente, o tonus de posição do preparado ?

E' bem certo que a fibra muscular lisa é capaz de se contrair por si mesma. Alguns pesquisadores pensam, na verdade, seja a atividade rítmica da preparação de intestino atributo da fibra muscular lisa, a exclusão de qualquer outra estrutura da parede. A própria preparação de músculo circular, de MAGNUS (preparação enervada), apresenta contrações de pequena amplitude, quando manipulada segundo as indicações de GUNN E UNDERHILL, e de VAN ESVELD. Nesse caso permanece, entretanto, a objeção da presença de elementos remanescentes do plexo de AUERBACH, como já vimos acima. Certas preparações de músculo liso apresentam, por vezes, contrações isoladas, ou mesmo série de contrações afetando a fórma de oscilações rítmadas. (Fig. 4). Mas, não se tem aí absolutamente a impressão de uma atividade rítmica automática. O músculo contrai-se de maneira irregular, sem nenhum periodismo, ou mesmo, quando êsse se verifica, aí aparece como se fôra solicitado por um determinado estímulo ocasional do meio exterior. Isto de modo nenhum se póde comparar com os enérgicos movimentos pendulares do intestino de coelho ou do intestino de gato. (Fig. 5).

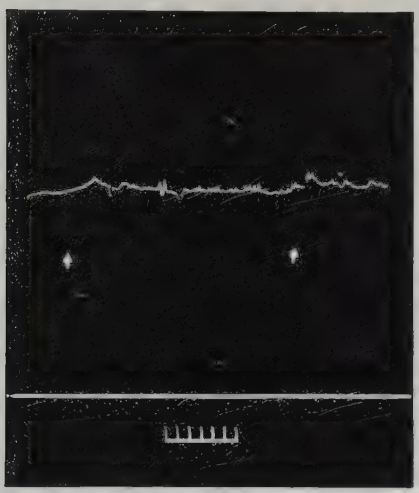


Fig. 4 — Preparação de músculo liso, suspensa em líquido de Tyrode. Contrações de pequena amplitude, determinadas por um estímulo químico. Tempo = 1 minuto.

Vemos, pois, não serem, quer a porção sarcoplasmatica da fibra múscular lisa, quer a miofibrila, as estruturas responsáveis pela atividade rítmica automática do intestino. Tão pouco às celulas nervosas do plexo de AUERBACH deve essa função elementar do segmento de intestino ser atribüida. Resta-nos considerar agora certos elementos da parede do intestino descritos por S. RAMON Y CAJAL desde 1893 com o nome de células intersticiais.

A êsses elementos parece, na verdade, competir êssa função, de acôrdo com as considerações seguintes: 1) eles permanecem na chamada preparação enervada; 2) não parecem ser, no sentido estrito do termo, elementos nervosos, e assim poderiam suportar, sem alteração notavel, largos períodos de

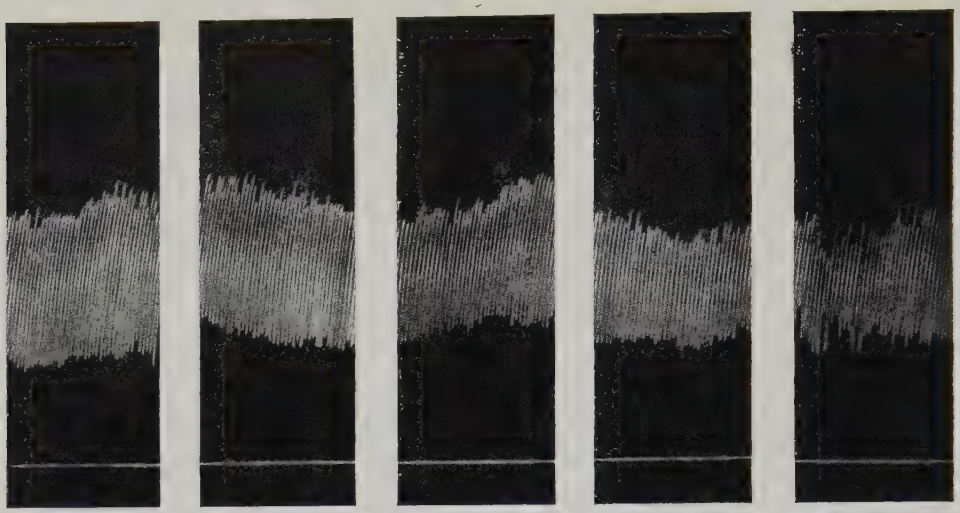


Fig. 5 — Intestino delgado de coelho, isolado e suspenso em líquido de Tyrode. Contrações rítmicas do intestino. Traçados obtidos de 5 em 5 minutos, por espaço de meia hora. 1 cm. da abscissa = 1 minuto. (Segundo Xavier & Pacheco, 1938).

sobrevida; 3) apresentam-se como células sem limites nítidos e entrelaçadas, formando um verdadeiro sincício retiforme, cujas finas ramificações terminam diretamente nas fibras musculares lisas.

## RÉSUMÉ


### L'AUTOMASTISME DE LA PRÉPARATION DE L'INTESTIN GRÊLE DES MAMMIFÈRES

On peut distinguer dans la préparation de l'intestin grêle des mammifères, isolé et en perfusion, deux fonctions élémentaires : 1) le tonus du muscle lisse; 2) l'activité rythmique et automatique de ce muscle (automatisme rythmique).

L'activité rythmique et automatique de la préparation de l'intestin grêle ne dépend pas directement du tonus de la préparation, comme on peut le démonter par nombre de faits d'observation. Ainsi, par exemple, les oscilations rythmiques peuvent persister au moment d'altérations brusques du tonus de la préparation du muscle de l'intestin grêle, qu'elles soient positives (augmentation du tonus), ou négatives (diminution du tonus). Ce fait démontre d'une façon sûre l'indépendance des deux fonctions et témoigne de l'existence de *substrata* histologiques spécifiques attribués á chacune des deux fonctions élémentaires de l'intestin grêle isolé et en perfusion.

Le plexus d' AUERBACH ne doit pas être consideré comme *le substratum* anatomique de la fonction automatique de l'intestin grêle.

Le *substratutum* de l'activité rythmique et automatique de l'intestin parait être réprésenté par le réseau de cellules de la paroi de l'intestin, décrites par S. RAMON Y CAJAL sous le non de cellules intersticielles.

## REFERÊNCIAS

VAN ESVELD. L. W.
1928. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol., 134 : 347.

GUNN, J. A. AND UNDERHILL, S. W. F.
1915. Quart. Journ. exper. Physiol., 8 : 275.

KEITH, A.
1915. The Lancet, 93 : 371.

MAGNUS, R.
1904. Arch. f. d. ges. Physiol., 102 : 123 e 349.
1905. Aarch. f. d. ges. Physiol., 108 : 1.

RAMON Y CAJAL, S.
1893. C. R. de la Soc. de biol. (Mem.), 45 : 217.

XAVIER A. A. & PACHECO, G.
1937. Comunicação á Soc. de biol. do Rio de Janeiro (Sessão de 9 de outubro).
1938. C. R. de la Soc. de biol., 127 : 161.
1938. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 33 : 63.

# Introdução ao estudo biométrico dos hemoflagelados do gênero Schizotrypanum (*)

## I. *Introdução, material e técnica, problema e métodos estatísticos*

por

Emmanuel Dias e Lincoln de Freitas, filho

### *Introdução*

O *Schizotrypanum cruzi* é o agente etiológico da doença de Chagas ou tripanosomose americana, infecção humana grandemente espalhada na América do Sul e existente na América Central e no México, cujos transmissores são Hemipteros da família Reduviidae. Mamíferos de diferentes ordens (carnívoros, desdentados, roedores, marsupiais, quirópteros, primatas, e outros) teem sido encontrados naturalmente infectados por parasitos do gênero *Schizotrypanum*, sobretudo no Novo Mundo, mas também em muitas outras regiões do globo. Os insetos transmissores, de que há varias dezenas de espécies conhecidas, contam com um representantes universal, o *Triatoma rubrofasciata*, já reconhecido em vários lugares como hospedeiro de flagelados. No homem a doença de Chagas não foi encontrada senão nas Américas.

A questão da unidade ou pluralidade das espécies do gênero *Schizotrypanum*, cuja importância etiológica e epidemiológica é desnecessário encarecer, impõe-se à simples consideração da multiplicidade e universalidade dos hospedeiros vertebrados e invertebrados de tal gênero. E a dificuldade de sua solução sobressái mesmo à apreciação superficial das propriedades comuns e esses protozoários : o aspecto morfológico geral das formas de tripanosoma; o processo de multiplicação intracelular sob a forma de leishmania; a transmissibilidade ubiquitária por hemípteros e outros invertebrados sugadores; o ciclo evolutivo e o mecanismo de transmissão contaminativa pelas formas metacíclicas do intestino posterior; a facilidade do cultivo *in vitro* e a analogia da evolução cultural; e a diversidade ou semelhança do

* Recebido para publicação a 21 de maio e dado à publicidade em junho de 1943.

comportamento em relação aos animais de experiência, levado em conta seu discutido valor como elemento de diferenciação específica, constituem circunstâncias suficientes para deixar entrever a complexidade do problema, já uma vez qualificado de "exasperante".

Até o presente, a questão tem sido mais investigada é a da identidade entre o *S. cruzi* e certos hemoflagelados parasitos de morcêgos. Com relação aos esquizotrípanos de outros animais, ela ainda não foi abordada de modo aprofundado, sendo admitido como o próprio *S. cruzi* os parasitos de uma série de mamíferos silvestres e domésticos. Em nenhum caso foi o problema investigado adeqüadamente do ponto de vista puramente morfológico.

Num trabalho anterior, Dias (1936), acompanhando a opinião geralmente adotada pelos autores, considerou todos os *Schizotrypanum* de morcegos como pertencentes a uma única espécie, *Schizotrypanum vespertilionis* (Battaglia), à falta de elementos que possibilitassem a distinção entre diversas espécies. Ainda mais, em vista das afinidades biológicas entre o *S. cruzi* e o *S. vespertilionis*, e de acordo com os conhecimentos então disponíveis, julgou também impossível caracterizar com precisão estas duas espécies (Dias 1936, pág. 76 e 83), tendendo porisso ao unicismo. Propôs, então, a criação de um "grupo" comportando todos êsses hemoflagelados: "O gênero *Schizotrypanum* comporta parasitos de numerosas espécies de mamíferos e invertebrados que, posta de lado a questão da unidade ou pluralidade das espécies, formam um grupo natural bastante característico, o grupo *vespertilionis*, de distribuição geográfica universal"...

Perseverando na investigação do problema, decidimos aprofundar o estudo da morfologia das formas sanguícolas dos esquizotripanos, aplicando métodos biométricos a exemplo do que fiseram outros autores para alguns tripanosomas (Pearson 1914, Hoare & Broom 1938, 1939). E o fisemos sob a inspiração da autorizada advertência de Pearson, tão perfeitamente aplicável ao caso em apreço: ..."the time has now come when without trained statistical aid, but little further progress will be made in a very important and urgent matter" (Pearson 1914, pág. 143).

Com o presente trabalho damos início à publicação dos resultados das pesquisas que vimos realizando desde 1938, ocupando-se um de nós, sobretudo, com a obtenção de amostras de parasitos, das respectivas mensurações e eventual estudo experimental, o outro com a parte estatística pròpriamente dita. Por mais de uma vez estivemos a ponto de publicar a respeito um trabalho de conjunto. Resolvemos, porém, supendê-lo, movidos pelo empenho em conseguir maior número de dados sobre a matéria; foi possível, assim, aprofundar mais os estudos e fugir a algumas conclusões prematuras.

Contando, atualmente, com alguns milhares de tripanosomas medidos, oriundos de amostras de *Schizotrypanum* de variada procedência, principiamos neste momento a publicação parcelada do estudo biométrico dessas amostras, agrupando-as segundo suas características morfológicas principais e segundo sua origem. Ao contrário do inicialmente planejado, não nos limitaremos apenas ao estudo do chamado "índice nuclear", mas deixaremos consignadas tôdas as medidas obtidas de cada amostra e de cada grupo, mesmo quando elas não sejam objeto de imediata análise estatística: assim, em qualquer tempo poderão ser úteis como têrmo de comparação para trabalhos ulteriores, ou mesmo poderão servir de base para investigações biométricas adicionais por parte de outros pesquisadores.

Referências a algumas das conclusões e a dados pertencentes à série de publicações que ora encetamos encontram-se incidentalmente em trabalhos anteriores de um de nós com diversos colaboradores (Dias 1940; Pifano & Dias 1940; Dias & Pifano 1941, 1942; Dias, Melo, Costa, Damasceno & Azevêdo 1942; Dias & Torrico 1943), bem como em trabalho extrangeiro a cujos autores confiámos material e esclarecimentos sôbre o assunto (Floch, Lajudie & Abonnenc, 1942).

*Material e técnica*

Tomámos por objéto, nas presentes investigações, ùnicamente as formas de tripanosoma, sanguícolas, de *Schizotrypanum*. Tratámos, portanto, de obter esfregaços de sangue de vertebrados natural e experimentalmente infectados, de preferência com intenso parasitismo, por amostras de procedência a mais variada possível tanto quanto ao hospedeiro como quanto à localidade de origem. Em geral eram lâminas fixadas a sêco pelo álcool etílico absoluto e coradas pelo Giemsa ou outra variante do Romanowhky. Trabalhámos também com gotas espessas, porem, excepcionamente.

Nosso material padrão foi o fornecido por amostras ("strains") mantidas no laboratório, de genealogia conhecida desde a origem, que eram medidas de tempos a tempos para verificação da constância ou da variabilidade das características biométricas. Algumas vezes utilizámo-nos de antigo material nosso, sobre o qual possuimos informações mais ou menos completas, e outras vezes servimo-nos de lâminas recebidas de outros pesquisadores, também nas mesmas condições. Ao decorrer dos próximos trabalhos serão dadas com a devida minúcia as informações indispensáveis de que dispomos a respeito de cada uma das amostras estudadas.

E' de grande importância a consignação de dados referentes à procedência da amostra, ao hospedeiro em cujo sangue êla é medida (espécie, tempo de infecção), ao número de parasitos, assim como a de outros infor-

mes que poderão parecer supérfluos, mas cuja anotação permitirá pelo menos o início da reünião de dados que poderão ser úteis, ou mesmo essenciais, na interpretação dos resultados da análise estatística, sejam êstes concordantes ou divergentes, verificados na comparação de medidas tomadas de determinada raça de parasito sob diferentes circunstâncias. E, se por um lado a apreciação dessas circunstâncias poderá não esclarecer desde logo as causas de uma variabilidade morfológica constatatada, por outro lado poderá servir como indicação para experiências tendentes a mostrar a natureza dessas causas, pela modificação adequada de supostos ou prováveis fatores de variabilidade e análise dos resultados produzidos: "Until we have such quantitative measure no hypothesis of sameness or difference can flow from statistical treatment; noboby as yet knows how much to attribute to environment, how much to attribute to individuality of strain" (Pearson 1914, pág. 101).

Estatìsticamente falando, constitue para nós uma amostra ("sample") cada série de medidas tomadas de determinado número de tripanosomas do sangue de um mesmo hospedeiro e no mesmo dia de infecção. Assim sendo encontrámos desde logo um obstáculo à realização, em condições ótimas, de nossas pesquisas, devido ao fato conhecido de que em geral nas infecções por *Schizotrypanum* o parasitismo sanguíneo é escasso. No homem, esta regra sofre raríssimas exceções. No animal, mesmo quando se trata raças de *Schizotrypanum* virulentas, quando se verifica uma infecção intensa ela geralmente decai rapidamente, escasseando mais e mais os parasitos até pràticamente desaparecerem da circulação; torna-se, portanto, quasi sempre difícil, mesmo nestes casos favoráveis, o estudo de amostras provenientes de um mesmo hospedeiro e obtidas a intervalos suficientemente longos para verificação de suas possíveis variações.

Por outro lado, as predileções de cada raça exigem determinados hospedeiros para provocar ricas infecções, o que restringe as possibilidades de investigações biométrica em variadas espécies animais. Devido à pobreza das infecções, na maioria das amostras de *Schizotrypanum* que mantemos no laboratório não é possivel a tomada de ("samples") em tôdas as passagens, sendo preciso esperar às vezes longo tempo até que se apresente ensejo para fazê-lo em boas condições. Temos vários exemplos de esquizotripanos cujo estudo só poude ser feito depois de várias passagens, e de outros que até agora nunca estiveram a ponto de ser investigados por só produzirem infecções inaparentes, ou quasi.

Para poder aproveitar a maior parte das lâminas disponíveis, nas quais às vezes tripanosomas só eram encontrados após prolongadas buscas, tivemos que nos limitar a medir um número relativamente muito pequeno de parasitos; em geral 50, algumas vezes menos, outras vezes mais. Tal é, porém,

BIOMETRIA DE SCHIZOTRYPANUM — I. O. C. (D. E. E.) — Dr. E. Dias

Amostra n. ..... Nome ..... Infecção .....
Origem .....
Sangue de ..... Data ..... Passagem .....
Data da inoculação ..... Tempo de infecção ..... Trip. medidos .....
Observações .....

DISTRIBUÏÇÃO DE FREQÜÊNCIA (μ) DIMENSÕES (μ)

| u | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | Mínima | Máxima | Média |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| P. N. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N. A. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Fl. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| COMPRIMENTO TOTAL | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

COMPRIMENTO TOTAL — DISTRIBUÏÇÃO DE FREQÜÊNCIA (μ)

| 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

ÍNDICE NUCLEAR (PN/NA) — DISTRIBUÏÇÃO DE FREQÜÊNCIA (EM DECIMOS)

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

ÍNDICE NUCLEAR (PN/NA) — DISTRIBUÏÇÃO DE FREQÜÊNCIA EM GRUPOS DE 0,5

| I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII | IX | X | XI | XII |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0.5—0.9 | 1.0—1.4 | 1.5—1.9 | 2.0—2.4 | 2.5—2.9 | 3.0—3.4 | 3.5—3.9 | 4.0—4.4 | 4.5—4.9 | 5.0—5.4 | 5.5—5.9 | 6.0-6.4 |
| | | | | | | | | | | | |

ÍNDICE NUCLEAR MÉDIO ..... .....

a amostra ("sample") no sentido estrito que definimos. Grupos de amostras idênticas ou próximas serão constituidos que, como veremos, chegam a compor-se por várias centenas e mesmo mais de um milhar de parasitos, o que de certo modo compensa o reduzido número dos indivíduos de cada amostra de per si.

Para a obtenção das medidas os tripanosomas são desenhados à câmara clara, a um aumento aproximado de 1.500 vezes. Marca-se o contorno do parasito, o flagelo, o núcleo e o blefaroplasto. Com o fim de evitar tôda e qualquer seleção, a lâmina deve ser percorrida metódicamente e os flagelados são marcados à medida que surgem no campo microscópico, desde que estejam íntegros e não apresentem deformações. A êsse respeito covem notar que os esfregaços não devem ser muito delgados, do contrário dilacera-se ou deforma-se a maioria dos tripanosomas.

Na realização desta parte do trabalho cuidámos em que as condições variassem o menos possível. Assim, todos os parasitos foram marcados por um único desenhista que usou sempre o mesmo microscópio, a mesma combinação de lentes e a mesma câmara clara, desenhando sempre à altura da mesa e a uma distância constante do pé da estativa. Para controle do aumento para cada série de tripanosomas figura no desenho uma escala micrométrica. Na obtenção das medidas foi sempre empregado o mesmo curvímetro (*Curvimètre à cadran et à manche H. C.*), manejando-o sempre o mesmo operador (D.). Desde já queremos deixar consignados nossos agradecimentos e a expressão sincera de nossa admiração ao Sr. Antônio Pugas, do Instituto Osvaldo Cruz, a quem devemos a execução meticulosa e paciente dos desenhos de milhares de tripanosomas.

De cada parasito desenhado são tomadas as medidas desejadas, percorrendo-se com a roda dentada do curvímetro, mantido em posição vertical, o corpo do tripanosoma pela linha mediana, começando na extremidade posterior e terminando na ponta do flagelo. As leituras são feitas em milímetros e depois convertidas em micra por meio de uma tabela.

O diagrama da fig. 1 mostra as três secções em que dividimos o protozoário para as respectivas medidas e obtenção do comprimento total e do índice nuclear. Assim, determinam-se para cada indivíduo:

1) A distância PN, da extremidade posterior ao meio do núcleo;
2) A distância NA, do meio do núcleo à extermidade anterior do corpo;
3) O comprimento do flagelo livre, Fl;
4) O comprimento total, T, constituido pela soma de 1, 2 e 3;
5) O índice núclear, IN, ou relação PN/NA, representado pelo quociente da divisão de 1 por 2.

Para facilitar a anotação dos dados concernentes a cada amostra medida organisámos uma ficha que se mostrou muito útil e cujo modelo reproduzimos em miniatura (o original mede 21 por 28 cm.)

*Problema e métodos estatísticos*

Uma vez obtidas as séries de medidas das amostras de tripanosomas, o problema estatístico que se apresenta é o de saber se elas constituem amostras de uma mesma "população" ou "universo", isto é, se diferem entre si apenas por variações de amostras ("randon samples"), ou se, ao contrário, devem ser consideradas amostras de "populações" diferentes. E' claro que o estudo

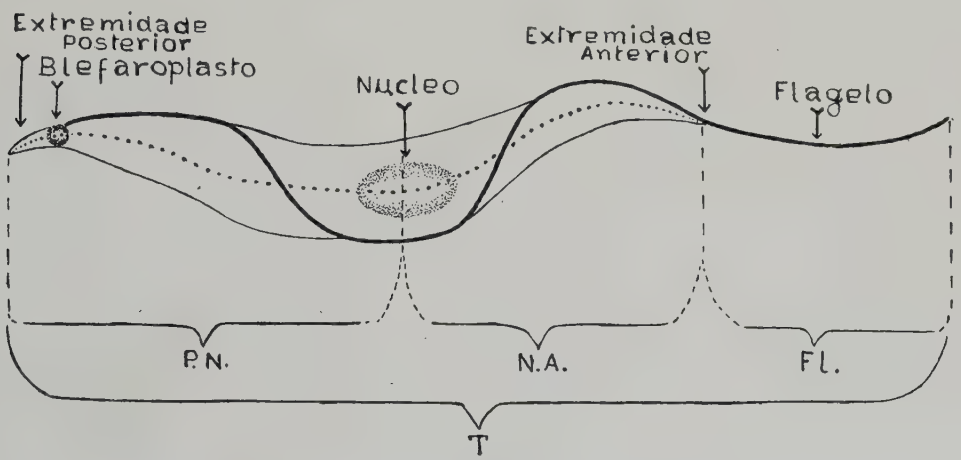



Fig. 1 — Diagrama de uma forma de tripanosoma de *Schizotrypanum*. PN = Extremidade posterior-meio do núcleo; NA = meio do núcleo-extremidade anterior; Fl = flagelo livre; T = comprimento total. A linha pontilhada indica o trajeto a ser percorrido pelo curvimentro no corpo do parasito.

estatístico da questão assim posta implica na premissa de que a única diferença apreciável, e por conseguinte a única tomada em conta na comparação das diversas amostras, é a que diz respeito às mensurações consideradas.

Desde os clássicos trabalhos de Pearson sabe-se que é inteiramente impossível resolver-se êste problema — o da identidade ou diferença de "amostras" — por simples processos de comparação gráfica entre distribuições de frequência, médias ou porcentagens.

Na investigação do problema em apreço começámos por considerar sòmente o comprimento total dos parasitos, tal como o tem feito outros autores no caso de verdadeiros tripanosomas. Porém, os resultados estatísticos da análise das 10 primeiras amostras não foi muito satisfatório. Ao correr dêsses

ensaios, observámos que uma outra dimensão dos tripanosomas parecia fornecer elementos para a melhor comparação das amostras entre si: a distância NA, que vai do meio do núcleo ao ponto de emergência do flagelo. De fato, os métodos estatísticos aplicados a séries de medidas desta distância mostraram resultados bastante animadores.

Com o desenvolvimento das pequisas, verificámos que resultados ainda melhores eram conseguidos tomando-se por base as médias ou as distribuições de freqüência dos índices nucleares das amostras em comparação. Como fàcilmente se deduz do exposto, a relação PN/NA indica a posição do núcleo de cada tripanosoma relativamente às duas extremidades do corpo (não considerado o flagelo), e a média dos índices dos indivíduos de cada amostra exprime a posição média do núcleo na amostra considerada, ou seja, o seu "índice nuclear médio" (INM).

Dois foram os processos estatísticos empregados, aliás com resultados muito concordantes, na comparação das amostras de *Schizotrypanum* entre si, tomado por base o índice nuclear.

O primeiro processo considera a diferença entre as médias aritméticas de duas distribuições de frequência, em relação ao erro padrão da diferença entre as médias. Quando a diferença entre duas médias excede de três vezes o erro padrão da diferença entre as médias, estas últimas são consideradas significativamente diferentes. Neste caso, as duas séries de medidas — estatísticamente falando — não devem provir de indivíduos de uma mesma "população" original, isto é, deve existir uma diferença real entre as duas amostras consideradas.

O segundo processo empregado é o desenvolvido por Pearson (1911, 1914) para calcular a probabilidade de duas distribüições de frequência independentes serem amostras de uma mesma população. E' o teste do $\chi^2$ que compara a distribuïção de freqüência verificada em tôda a extensão das mensurações. Segundo Pierson este método, que tem sido aplicado a um grande número de problemas, é o mais adequado para estabelecer um critério de identidade de amostras de populações. Determinado o valor de $\chi^2$, obtem-se, por meio de tabelas especiais (Elderton 1902, Pearson 1914-A), a probabilidade (P) de que este valor possa existir por acaso entre duas amostras oriundas de uma mesma população ou universo. Quando P é menor do que 0,01 (ou 1%) presume-se existir uma diferença real entre as amostras, e tanto maior será a divergência estatística quanto menor esse valor (geralmente apura-se até a 6.ª casa decimal). Quando P é maior do que 0,01 as amostras são consideradas do ponto de vista estatístico como podendo pertencer a uma mesma população; e quanto maior o seu valor, maior a semelhança entre as amostras comparadas, cuja igualdade estatística teórica é representada pela unidade (= 100%).

*

* *

No próximo trabalho, a aparecer nestas Memórias, ocupar-nos-emos do primeiro grupo de amostras de *Schizotrypanum*, constituído por parasitos de índice nuclear médio variando em torno de 1,0 e originários de morcegos (*Phyllostomus hastatus, Phyllostomus elongatum*) e de gambás.

## REFERÊNCIAS


Dias, E.

1936. Revisão geral dos Hemoflagelados de Chirópteros. Estudo do *Schizotrypanum* do *Phyllostomus hastatus*: identidade com *Schizotrypanum cruzi*. IX Reunião Soc. Argentina Patol. Reg., Buenos Aires, 1 : 10-88.

1940. Sobre um *Schizotrypanum* dos morcêgos *Lonchoglossa ecaudata* e *Carollia perspicillata* do Brasil. Memórias do Inst. Osvaldo Cruz, 35 (2) : 399-409.

Dias, E., Melo, G. B., Costa, O., Damasceno, R. & Azevedo, M.

1942. Investigações sobre esquizotripanose de morcêgos no Estado do Pará. Encontro do barbeiro *"Cavernicola pilosa"* como transmissor. Rev. Brasil. Biol. 2 (1) : 103-110.

Dias, E. & Pifano C., F.

1941. Estudo experimental de um *Schizotrypanum* do morcêgo *Hemiderma perspicillatum* da Venezuela. Memórias Inst. Osvaldo Cruz 36 (1) : 79-98.

1942. Sobre um *Schizotrypanum* do morcêgo *Phyllostomus elongatum* da Venezuela. Rev. Brasil. Biol. 2 (1) : 95-97.

Dias, E. & Torrico, R. A.

1943. Estudos preliminares sobre a doença de Chagas na Bolívia. Memórias do Inst. Osvaldo Cruz 38 (2) : 165-172.

Elderton, W. P.

1902. Tables for testing the goodness of fit theory to observation. Biometrika 1 : 155-163.

Floch, H., de Lajudie, P. & Abonnenc, E.

1942. Schizotrypanosome des cheiroptères en Guyane Française. L'indice nucléaire moyen. Inst. Pasteur Guyane Terr. Inini 51 : 1-7.

Hoare, C. A. & Broom, J. C.

1938. Morphological and taxonimic study on Mammalian trypanosomes. IV. Biometrical study of the relationship between *Trypanosoma uniforme* and *T. vivax*. Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg. 31 (5) : 517-534.

1939. Morphological and taxonomic study on Mammalian trypanosomes.
VII. Differentiation of *Trypanosoma uniforme* and *T. vivax* in mixed infections.
Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg. 32 (5) : 629-632.

PEARSON, K.

1911. On the probability that two independent distributions of frequency are really samples from the same population.
Biometrika 8 : 250-254.

1914. On the probability that two independent distributions of frequency are really samples of the same population, with special reference to recent work on the identity of trypanosome strains.
Biometrika 10 : 85-143.

1914*a*. Tables for statisticians and biometricians.
Cambridge University Press, 143 pp.

PIFANO C., F. & DIAS, E.

1940. Parasitismo natural do morcêgo *Carollia perspicillata* por um *Schizothypanum* na Venezuela.
Brasil Méd. 54 (42) : 695-696.

*Nota* — Em alguns trabalhos anteriores há referência a publicações de Dias & Freitas que não chegaram a ser impressas, como "Nota preliminar sobre a biometria dos flagelados do gênero *Schizotrypanum*" (1942), sendo o presente o primeiro trabalho dos autores sobre o assunto.

# Novo transmissor silvestre do "Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi" (Chagas, 1909) (*)

por

F. Nery Guimarães e Geth Jansen

(Com 1 estampa e 3 figuras no texto)

Por determinação do Diretor do Instituto Osvaldo Cruz, há sete meses, vimos realizando pesquisas epidemiológicas no bairro de Santa Tereza, com a finalidade de estudar um foco de tripanosomíase americana que verificamos ser silvestre. Aí, já constatamos gambás *Didelphis aurita* como depositários do *Trypanosoma* (S.) *cruzi* e transmissores do gênero *Panstrongylus megistus* Burmeister, também infectados. No decorrer dos trabalhos, que prosseguem, tivemos ocasião de encontrar em ninhos dos referidos marsupiais assim como de ratos silvestres, localizados em palmeiras, um pequeno "barbeiro", gênero e espécie novos (próximo aos dos gêneros *Belminus* e *Bolbodera*), cuja determinação e descrição é feita pelo Dr. Herman Lent neste mesmo volume das "Memórias". Estamos estudando a biologia do inseto em apreço, o que constituirá assunto de outra publicação.

Trata-se de um "barbeiro" de pequeno talhe (Estampa 1, figura 1), o qual foi encontrado em todas as suas fases evolutivas de ovo a adulto nas condições referidas.

As palmeiras em questão (fig. 1) pertencem à espécie *Attalea indaya* Dr., determinação que devemos ao Dr. Kuhlmann, Diretor do Jardim Botânico, a quem agradecemos. Da monografia de G. Bondar sobre o gênero *Attalea* (Boletim n. 13 do Inst. C. de Fomento Econômico da Baía, 1942), coligímos os seguintes dados:

As palmeiras deste genero constituem um grupo bastante homogêneo, com vasta distribuição no Brasil e outros paises central e sul-americanos. Na literatura são frequentemente consideradas "babassú", confundidas com *Orbignia especiosa* Mart. O povo distingue as espécies dando-lhes nomes diferenciais: *palmeira, piassaboçú, pindobaçú, andaiá, naiá, catolé, piaçava,* etc.

* Recebido para publicação a 24 de maio e dado à publicidade em junho de 1943.

São palmeiras genuinamente americanas, não se encontrando em outros continentes. Compreendem dois grandes grupos: cauliformes e acaules. No primeiro, estão incluidas oito espécies, entre as quais *A. indaya* Drude, espalhada do Rio de Janeiro ao Rio Grande do Sul.

Fig. 1 — Exemplar de palmeira (Attalea indaya Dr.) onde marsupiais do genero *Didelphis* e ratos silvestres (Gn? sp?) constroem seus ninhos com folhas sêcas. Em tais ninhos, foram encontrados focos de criação do novo Triatomídeo referido no texto. A seta mostra onde são localizados os ninhos

Numerosas um pouco além, nas matas que margeiam a Estrada da Lagoinha, estas palmeiras mostram-se esparsas no local que está sendo objeto de estudo presentemente. De 12 exemplares adultos pesquisados, em nove foram encontrados os "barbeiros" referidos geralmente em número reduzido, contendo, todavia, algumas delas, numerosos espécimes. Nas palmeiras jovens, somente uma vez foram achados os insetos, o que deve ser explicado pelo fato de raramente abrigarem os ninhos (Fig. 2) dos animais que servem de fonte alimentar para os Triatomídeos em questão.

Em uma das palmeiras, foi capturado em seu ninho, um gambá *(D aurita)* (figura 3), o qual foi verificado com infecção natural por um tripanosoma apresentando morfologia e movimentos do *T. (S.) cruzi*. Pela inoculação de

Fig. 2 — Gênero *Attalea* (detalhe de um foto original de G. Bondar, *op. cit.*). Indicado pela seta, vê-se o ponto onde se localizam os ninhos de gambás e ratos silvestres, muitos deles constituindo focos de criação do novo Triatomídeo.

sangue deste gambá em cobáios, foi possível transmitir a infecção para êste animal. No ninho referido, além de outros exemplares do novo "barbeiro", foi encontrada uma ninfa em repleição, a qual continha no intestino formas evolutivas de um tripanosoma.

Entre ninfas e adultos, foram examinados 16 exemplares do novo "barbeiro", quer por punção retal, quer por disseção, verificando-se estarem sete infectados pelo mesmo tripanosoma (Estampa 1, fig. 2). Com conteúdo abdominal de dois dêles, foram então inoculados no peritôneo dois cobáios. Após 20 dias de inoculação, ambos apresentaram tripanosomas no sangue periférico (Estampa — I, fig. 3). Os xenodiagnósticos dêstes animais, feitos com ninfas de *Panstrongylus megistus* e *Triatoma infestans* das criações da Divisão de Estudos de Endemias do Instituto, foram positivos depois de 25 dias.

Dada a relativa frequência de ninhos de Didelfídeos nas palmeiras referidas, e dada a percentagem de infecção dos mesmos no local em estudo (30%), é possível suspeitar que a transmissão do *Trypanosoma* (S.)

Fig. 3 — Gambá (*Didelphis aurita*) encontrado em seu ninho em uma das palmeiras referidas, estando parasitado pelo *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi* em condições naturais. Êsse ninho era um dos focos de criação do novo Triatomídeo.

*cruzi* entre êsses animais, é aí garantida por este novo Triatomídeo. E a alta percentagem de infecção com que este inseto se apresenta (43,7 %), mostra ser êle um bom transmissor daquele tripanosoma, fato êste que permite pensar que as espécies dos gêneros próximos *Belminus* e *Bolbodera*, que ainda não foram encontradas infectadas, tambem o sejam.

## SUMMARY

In nests of opossum (*Didelphis aurita*), localized in palm-trees of the species *Attalea indaya* Dr., the authors found a new triatoma, the description of which is being made by Dr. H. Lent. They verified that this triatoma had

been naturally infected by *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi*. Two guinea-pigs were subsequently infected by peritoneal inoculation of excrements of this new triatoma. The xenodiagnosis of these guinea-pigs, made with normal *nymphas* of. *T. megistus* and *T. infestans* resulted positive after 25 days. Evidence was obtained of being the opossum (Didelphis) one of the sources of infection of the new vector, because several specimens of them were found infected, and also a specimen of *D. aurita*, which contained trypanosomes with the morphology of *T.* (S.) *cruzi* in the peripheral blood.

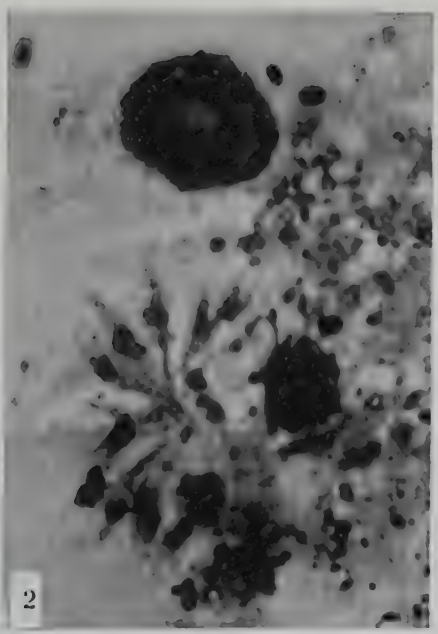
## ESTAMPA I

Fig. 1 — Fêmea do novo Triatomídeo, referido no texto, fotografado ao lado de uma fêmea de *Panstrongylus megistus*, também capturada na zona em estudo. Dôbro do tamanho natural. Foto de J. Pinto.

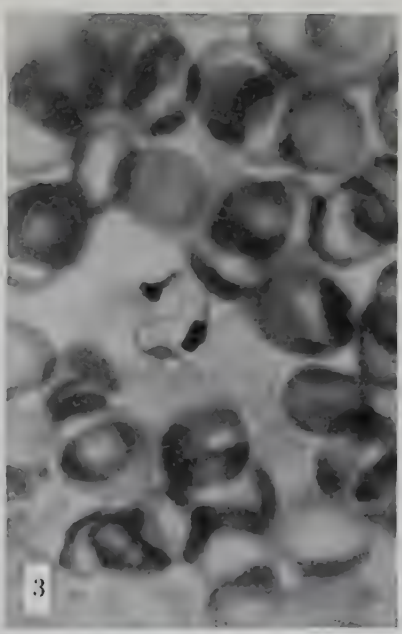
Fig. 2 — Esfregaço de conteúdo abdominal de um exemplar do novo Triatomídeo parasitado pelo *T.* (S.) *cruzi*, mostrando uma roseta constituida por formas evolutivas desse tripanosoma. 1.600 XX. Microfoto de J. Pinto.

Fig. 3 — Exemplar de *Trypanosoma* (*S.*) *cruzi* no sangue periférico de um cobaio inoculado intraperitonealmente com o conteúdo abdominal de um exemplar infectado, do novo Triatomídeo. Microfoto de Miguel Cesar. 1.600 XX.

1



2



3

Guimarães — Jansen

# Considerações sobre Cephisus siccifolius (Walker, 1871) (Homoptera: Cercopidae)

por

Charles R. Hathaway

(Com cinco figuras no texto)

Examinando, em Manguinhos, algumas plantas do gênero *Cassia* cujos galhos e flores se achavam envoltos em uma espuma branca, encontramos formas jovens e adultas de um homóptero, que identificamos como *Cephisus siccifoluis* (Walker, 1871), recorrendo ao terceiro volume de "Insetos do Brasil" do Professor Costa Lima.

Este autor refere o seguinte :

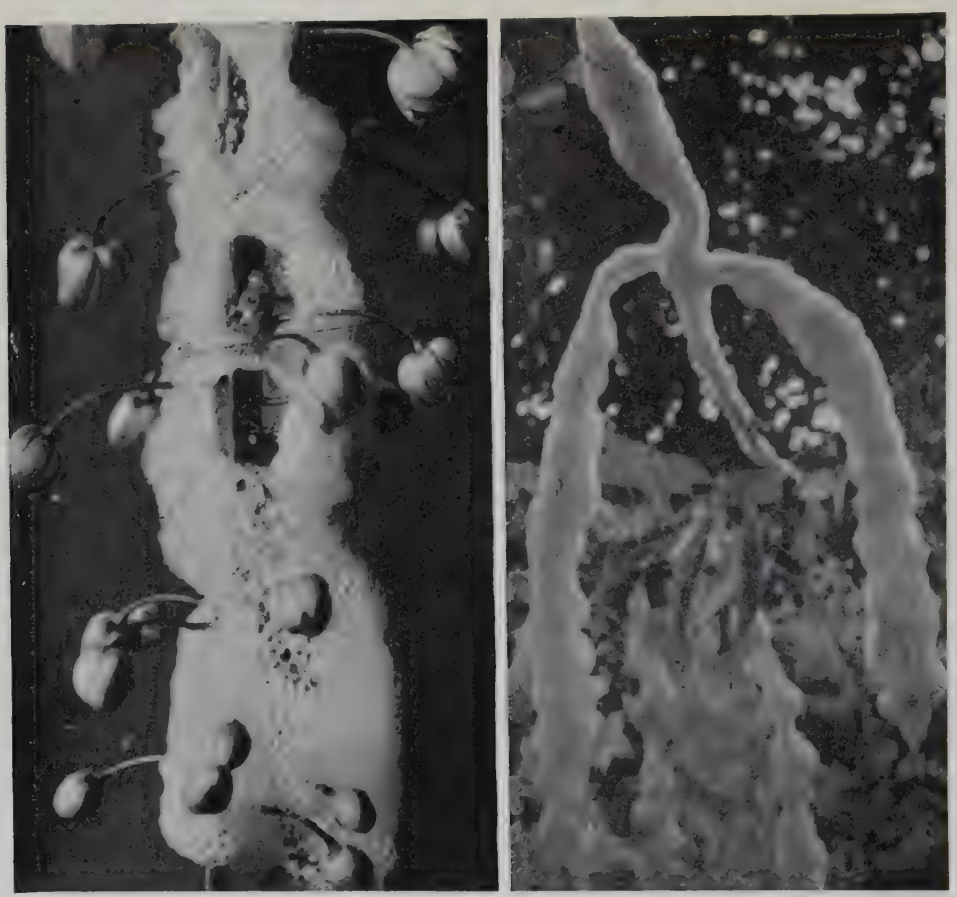
"Observa-se este inseto, quase sempre em setembro, atacando leguminosas do gênero *Acacia*. Periodicamente, porém, prolifera de modo impressionante. Veem-se, então, os galhos infestados pelas formas jovens totalmente envolvidas por grandes massas de espuma e a quantidade de líquido excretado é tal que, goteajndo continuamente no solo, o molha em áreas relativamente extensas, no meio das quais se formam pequenas poças de líquido. Não sei de outro Homóptero capaz de drenar em tão grande escala a seiva das plantas em que se assestam, e no entanto essas, aparentemente, resistem bem ao ataque do inseto".

Fig. 1 — *Cephisus siccifolius* (Walker, 1871) (Fot. J. Pinto).

Esta espuma, branca e pegajosa, é excretada pelas formas jovens que balançam o abdome de um para outro lado, enquanto o último segmento forma pequeninas bolhas que se vão acumulando até formar grandes massas.

Nos referidos galhos, só encontramos formas jovens do último estadio, não podendo, pois, verificar se é somente nele ou por ocasião das ecdises que se processa tal fenômeno, ou mesmo durante todo o estado larvário.

O inseto caminha para determinado ponto, e aí introduzindo o rostrum no galho da planta, enquanto suga a seiva, excreta o líquido que o envolve por completo, ficando o homóptero debaixo de uma abóboda.



Figs. 2 e 3 — Espuma causada pelas formas jovens de *Cephisus siccifolius* (Walker, 1871) (Fot. J. Pinto).

Geralmente, as formas jovens assim procedem, muito juntas umas das outras, de maneira que as massas se unem, formando um tunel de espuma, no interior do qual caminham os insetos.

Transformam-se então em adultos, abandonando algum tempo depois a sua curiosa câmara já completamente quitinizados.

Faltando o agente causador da câmara, a espuma começa a amarelecer e secar, dando, assim seca, a impressão de um rastro de caramujo.

Marelli (1931), estudando as pragas que atacam as árvores que adornam os parques de La Plata (Argentina), teve ocasião de travar conhecimento com este inseto publicando sobre o mesmo interessante artigo.

Figs. 4 e 5 — Espuma causada pelas formas jovens de *cephisus siccifolius* (Walker, 1871) (Fot. J. Pinto).

Este autor, teve também oportunidade não só de observá-lo em vários hospedeiros como de experimentá-lo em outros, notando então que de acôrdo com a planta, aumenta ou diminue não só a massa espumosa, como varia a coloração da espuma.

Afirma por outro lado, que o inseto é de hábitos polífagos parecendo preferir as leguminosas, assinalando como plantas hospedeiras as seguintes:

*Robinia hispida, Robinia pseudo acacia, Erythrina crista galli* (L.), *Prosopis algarrobila* Gris, *Schinus molle* L., *Wisteria sinensis* (Sims), *Acacia melanoxylon* e como plantas hospedeiras experimentais :

*Rhynchospermum jasminoides, Celtis tala, Philadelphus coronarius, Juniferus virginiana, Jacaranda acutifolia* Humb. & Bompl., *Tipuana tipu* (Benth), *Platanus orientalis, Acer negundo, Populus canadensis.*

Algumas destas plantas que são encontradas no Brasil, foram assinaladas pelo Professor Costa Lima (1936), atacadas, porém, por outros insetos.

## BIBLIOGRAFIA

MARELLI, C. A.

1930. Los arboles con ramas espumosas que lloram y escupen durante ed verano tienen por causante al inseto succionador Cephisus siccifolius Walk. La Epoca de 15 de junho.

1931 — O mesmo trabalho. Maderil, 4 (41) : 13-16.

COSTA LIMA, A. M. da

1936. Terceiro catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil. Dir. Est. Prod., Rio de Janeiro, 460 págs.

1942 — Isetos do Brasil 3 : 1-327, 267 figs.

# Infecção espontânea e experimental de Hematófagos (Ixodídeos, Triatomídeos, Culicídeos, Hirudíneos, Pediculídeos e Cimicídeos) em leprosos (*)

## Possibilidade de serem eles vectores ou transmissores da lepra

pelo

Dr. H. C. de Souza-Araujo

(Pesquisas iniciadas em vários pontos do Estado de Minas Gerais e prosseguidas no Instituto Oswaldo Cruz, em Manguinhos).

(Com 21 figuras intercaladas no texto)

### I — IXODÍDEOS

No meu trabalho intitulado *"Poderá o carrapato transmitir a lepra ?"*, 3.ª Nota em colaboração com o Dr. RUY NORONHA MIRANDA (1), ficou *provado* que tanto o *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1794), ixódida ubíquo na América tropical e parasito constante do homem e dos animais domésticos, como tambem o *Boophilus microplus* (Cannestrini, 1888) igualmente ubíquo em quase todos os paises Sul-americanos e antes dos nossos estudos considerado como parasito exclusivo da raça bovina, podem se infectar em leprosos e mudar de hospedador durante cada repasto, levando-nos a considerá-los como possiveis vectores ou transmissores da lepra humana, na zona rural.

Depois dessa publicação, que teve lugar em setembro de 1942, tive as minhas vistas e atividades voltadas para outros hematófagos, mas pude, entretanto, acumular mais alguns factos que veem robustecer as evidências em favor daquela nossa hipótese, e merecem ser divulgados. Quando publiquei o meu primeiro artigo (2) sobre este importante assunto (dezembro de 1941), mandei um *separatum* do mesmo ao Dr. NELSON SOUZA CAMPOS, Vice-diretor do Departamento de Profilaxia da Lepra do Estado de São Paulo, com as minhas sugestões para que se interessasse pelo problema, e ele me respondeu, em memorando de 22 de fevereiro de 1942, o seguinte :

* Recebido para publicação a 28 de maio e dado à publicidade em junho de 1943.

"Prezado Colega Dr. Souza Araujo. Acabo de receber e ler seu trabalho "Poderá o carrapato transmitir a lepra?" nas Memórias do Instituto Oswaldo Cruz e que teve a amabilidade de m'o enviar, o que agradeço. Não há dúvida de que o assunto é digno de ser observado, estudado e repetido, não só para esse como para outros hematófagos, pois é de enorme importância na discutida questão da transmissão da lepra. Conversei com o Moacyr Souza Lima, nosso bacteriologista, para a repetição de suas experiências, e aguardo interessado o resultado de seus estudos. Etc.".

Infelizmente, até hoje (25 de maio de 1943) não tive nenhuma notícia sobre essa desejada verificação. Dos colegas paulistas diretores de leprosários, apenas o Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, diretor do Asilo-Colônia "Aymorés", de Baurú, me prometeu, espontâneamente, mandar carrapatos infectados em leprosos. Passados alguns meses reclamei a remessa desses parasitos e ele me respondeu que era impossivel porque os doentes do seu estabelecimento se recusavam a servir para a experiência, supondo, talvez, tratar-se de operação difícil e dolorosa.

Entretanto, aquí no Rio de Janeiro, eu a repito frequentemente, sem o menor obstáculo, em doentes de todas as categorias sociais. Tenho merecido de todos eles a mais franca e louvável cooperação.

Do Pará, Piauhy, Minas Gerais, Espírito Santo e Paraná recebi muitos lótes de carrapatos capturados ou infectados experimentalmente em leprosos, sendo que chegaram secos os que vieram daqueles dois Estados do Norte e tive que suspender novas remessas. Confesso-me muito grato a todos os colegas que houveram por bem colaborar comigo nestes estudos. Colegas do Paraguay e da Bolivia tambem prometeram colaborar, mas as grandes distâncias não oferecem condições de êxito. Em Minas Gerais, os leprólogos estavam divididos em dois grupos: um que acreditava no facto do carrapato mudar de hospedador durante o repasto, e outro que negava essa possibilidade. As minhas recentes demonstrações, realizadas na Colônia Santa Fé, em Três Corações, acabaram com os descrentes e agora todos eles encaram os carrapatos como grandes inimigos da saúde pública.

De Buenos Aires me escreveu o ilustre Professor Pedro L. Baliña:

"A propósito de sus estudios sobre transmisión de lepra por garrapatas, empiezo por agradecerle los folletos que me dedicó, los que he leído con interés. Convendría saber qué ocurre entre nosotros en las zonas del país donde existen garrapatas. Aquí y

en la provincia de Buenos Aires nunca tenemos ocasión de verlos ni en el hombre ni en el ganado".

Tambem F. LAHILLE (3), o grande especialista em Ixódidas, disse (1905) que nunca encontrou *Boophilus* na Província de Buenos Aires, mas que nos matadouros da Capital Federal encontrava facilmente carrapatos trazidos pelas vacas importadas das províncias do Norte. Entretanto, a variedade *argentinus* foi descrita por NEUMANN com exemplares provenientes de Buenos Aires. Informa, ainda, LAHILLE, que existem cinco espécies de *Amblyomma* na Argentina e que o carrapato comum no boi na Argentina, Paraguay, Uruguay e Chile era o *Hoemaphysalis micropla* (Cannestrini), que, segundo NEUMANN é muito próximo da variedade Sul-africana. Em 1938, CESAR PINTO (4) diz à página 62 do seu tratado sobre *Zooparasitos* que o gênero *Boophilus* Curtice, 1891, "ocorre no Brasil, Argentina, Uruguay, Paraguay, Venezuela e outros países da região neo-trópical". E, à página 65: o *Boophilus microplus* (Cannestrini, 1888), "Importantíssimo transmissor da tristeza bovina no Brasil, Argentina e outros paises sul-americanos". Em importante monografia de 1940 NICOLAS GELORMINI (5) faz aprofundado estudo sobre o *Boophilus microplus* na Argentina; portanto, existem alí os dois ixódidas que, verificadamente, se infectam em leprosos e provavelmente transmitem a lepra.

*Os novos factos...*

Antes de relatar os novos factos vale a pena transcrever a seguintes observação (pág. 418, 3.ª Nota): "No dia 3 de agosto, recebi de Vitória, remetida pelo Dr. J. A. SOARES, uma ninfa, que o Dr. H. ARAGÃO determinou como sendo de *Amblymma cajennense*, capturada no dia 31-7 no leproso P. A. Amaral, internado da Colônia de Itanhenga, doente esse com exames de muco, pele e gânglios fortemente positivos. Trata-se dum caso de *parasitismo espontâneo*, em pele aparentemente sã, informa aquele ilustre colega. Essa ninfa foi triturada no mesmo dia 3, isto é, no 3.º dia de interrupção do seu repasto. Os esfregaços do seu triturado revelaram abundantes bacilos isolados, em feixes e em globias redondas e ovalares, de vários tamanhos".

Outro caso de parasitismo espontâneo, este em pessoa de alta condição social: no dia 22-7-42 fui procurado no meu consultorio por um rico fazendeiro em Barra Mansa (E. do Rio), (T. N. leproso que estava em franca regressão do seu mal e teve tremenda reação em consequência do uso do Alfon), que me veio consultar. Examinando-o, todo despido, encontrei no seu dorso, um carrapato que arranquei e lhe mostrei. Ele informou que antes de sair de casa tirara outro da perna e que frequentemente é atacado por esse

parasito, enquanto percorre, a cavalo, os seus campos. Tratava-se dum *Amblyomma* ♀ que, examinado por mim não se mostrou infectado pelo bacilo da lepra.

A seguir, o estudo será feito por Estados, de acordo com a procedência do respectivo material.

*Estado do Espírito Santo* — Neste Estado contei com a boa vontade do Dr. José A. Soares, Diretor do Serviço de Profilaxia da Lepra do Estado, que, a meu pedido solicitou aos enfermos agricultores da Colônia de Itanhenga lhe entregassem os carrapatos encontrados nos seus corpos, ao regressarem do campo. O ambiente alí é propício para um estudo sistemático, capaz de esclarecer algumas das incógnitas sobre a transmissão da lepra, por hematófagos alados ou ectoparasitos. No dia 22-8-42, recebi de Itanhenga dois carrapatos, que o Dr. Henrique Aragão determinou como ninfas de *Amblyomma cajennense,* capturados nos enfermos J. Garcia e J. Marcondes. O exame dessas ninfas revelou estarem elas infectadas com o bacilo de Hansen. A semeadura dêsse material, em Loewenstein deu, entretanto, resultado negativo.

No dia 16-9-42, recebi de Itanhenga três exemplares de *Boophilus microplus* que haviam sugado o leproso M. A. Silva (Caso L2-N2). Como fossem exemplares pequenos e do mesmo doente, triturei-os juntos, após o necessário tratamento prévio à semeadura. Das quatro lâminas com esfregaços do triturado duas foram positivas. As semeaduras nada produziram.

*Estado do Piauhy* — No dia 23-9-42 recebi de Parnaíba, por correio aéreo, remetido pelo Dr. Sebastião M. Brito, diretor do leprosário "Colônia Carpina": *"três carrapatos que sugaram leprosos* L3", dizia a nota acompanhante. Abertos os tubos só encontrei duas fêmeas de *B. microplus,* mortas e uma delas sêca. Após maceração em sôro fisiológico triturei esses carrapatos sobre lamina, e os esfregaços mostraram abundantes bacilos a. a. r., homogêneos. O Dr. Brito não informou se se tratava de parasitismo espontâneo ou experimental e se ofereceu para mandar mais material, que recusei pela longa distância.

*Distrito Federal* — Com carrapatos capturados nas paredes do estábulo de Manguinhos, preferindo a espécie *A. cajennense,* fiz várias pesquisas em enfermos, e várias tentativas infrutíferas de culturas de germes que se podessem confundir com o bacilo da lepra. Estas últimas pesquisas merecem ser repetidas porque, duas vezes, em dois carrapatos normais, encontrei um bácilo ligeiramente ácido-alcool resistente.

No dia 3-10-42, apliquei no menino José (Caso L2, o mesmo que já me deu uma cultura cromogênica pura de bacilos a. a. r.), dois exemplares machos de *A. cajennense* do lote coletado no estábulo de Manguinhos, após alguns dias de jejum. A aplicação foi feita no coxa, sobre lesão ativa, e com aparelho de contenção. O seu pai me informou que os parasitos sugaram o menino durante seis horas, entretanto o triturado deles não revelou sangue, facto que já verifiquei várias vezes em se tratando de exemplares machos; entretanto os esfregaços do triturado desses dois carrapatos tinham alguns bacilos, indistinguíveis do de HANSEN. No mesmo menino José apliquei, a 5-10-42, três fêmeas de *A. cajennense*, provenientes do estábulo de Manguinhos. O parasitismo, com aparelho protetor durou seis dias, produzindo na face anterior da coxa esquerda do paciente, onde foram eles colocados, uma dermatite característica (a mesma descrita pelo Dr. R. N. MIRANDA).

Esses três carrapatos, após tratamento pelo método de PETROFF, foram triturados e o seu sedimento semeado. O esfregaço do triturado, francamente sanguinolento, revelou abundantes bacilos isolados, em feixes e algumas globias. Vê-se aquí a diferença entre machos e fêmeas; estas muito mais próprias para as experiências. As semeaduras desse material tambem foram negativas.

No dia 10-10-42, coloquei sobre o abdome de Lobélia (L2), com aparelho protetor, três carrapatos do estábulo de Manguinhos, sendo um *A. cajennense* ♀ e dois *B. microplus* ♀ os quais foram retirados uma semana depois. Os *Boophilus* estavam mortos, presos ao esparadrapo e o *A. cajennense* foi triturado e os seus esfregaços foram positivos apesar do ixódida ter sugado em pele aparentemente sã, coisa verificada antes com a mesma paciente.

*Estado da Paraná* — Ao Dr. RUY NORONHA MIRANDA, diretor do Leprosário São Roque (Piraquara), devo a gentileza de novas remessas de ixódidas infectados em doentes do seu estabelecimento, como passo a relatar:

No dia 17-10-42, recebi dois *B. microplus* ♀ que haviam sugado doentes lepromatosos. O exemplar que sugou Hoisio (Caso L3), durante dois dias, ainda tinha sangue com aspecto normal e deu resultado negativo à baciloscopia. O exame foi feito 12 dias após a retirada do parasito da pele do enfermo. O do segundo doente, cujo nome não me foi informado, deu resultado positivo (raros bacilos). As semeaduras desse duplo material fracassaram.

No dia 21 do mesmo mês, recebi mais quatro *B. microplus* ♀, das quais duas haviam sugado J. Sibert durante três dias e o seu exame foi negativo. As outras duas, que sugaram o doente B. Rubniack, tambem durante três dias, se mostraram fortemente infectadas: esfregaços com

abundantes bacilos e muitas globias. Apesar dessa riquesa bacilar as semeaduras foram negativas, convindo referir que o material foi tratado pelo ácido sulfúrico a 5 %.

Dois dias após, recebi mais quatro *B. microplus* ♀ que sugaram de 12 a 20/10 os leprosos B. Cardoso (1), O. Araujo (2) e Alcebiades P. (1). Todos esses quatro carrapatos foram tratados pelo ácido sulfúrico (Método Loewenstein), triturados e semeados, sem nenhum resultado positivo. Os esfregaços de triturado de todos esses carrapatos foram positivos, sendo que fortemente apenas os de Alcebíades (abundantes bacilos e globias). Carrapatos infectados em Alcebíades, em junho de 1942, deram uma cultura de bacilo a. a. r. que está em estudo aquí e nos Estados Unidos, juntamente com outras.

A 30 de novembro, recebi de Curitiba mais quatro *A. cajennense* ♀ que haviam sugado os doentes O. Veiga (L3) e Alcebiades P. (L3), de 19 a 24-11 e retirados cheios. Estes dois lotes foram tratados pelos ácidos sulfúrico e acético e triturados. Os seus esfregaços revelaram poucos bacilos no material de Veiga e abundantes, inclusive globias, no material de Alcebiades. Foi este o último lote recebido do Paraná, pois suspendi novas remessas, por enquanto.

*Estado de Minas Gerais* — Foi neste Estado que iniciei os meus estudos e experiências com ixodídeos, em agosto de 1941, e é alí que pretendo prosseguir nas pesquisas complementares, em focos rurais de lepra. Apraz-me declarar que para esses estudos tenho recebido das autoridades sanitárias mineiras a mais decidida e valiosa cooperação.

No dia 20-11-42, recebi de Belo Horizonte, gentilmente remetido pelo Dr. Orestes Diniz, um grande lote de carrapatos (todos da espécie *A. cajennense*) de várias idades e capturados em animais, distante do leprosário. A 23 do mesmo mês, recebi outro lote, da mesma espécie, trazido de Uberaba pelo Sr. Lanes M. Borges. Doze exemplares desses dois lotes, considerados como normais, foram tratados pelo mesmo método adotado para os carrapatos infectados, e os seus exames microscópicos e semeaduras deram resultados completamente negativos.

Do lote de Belo Horizonte, tomei duas fêmeas e apliquei sobre a coxa direita de Lobélia (Caso L2), a 21-11-42, as quais sugaram-na durante 24 horas, enchendo-se e largando-a espontâneamente. Dois dias depois, tratei esses carrapatos pelo método de Petroff e fiz com os seus triturados semeaduras em 20 tubos de Loewenstein, que se contaminaram em poucos dias, coisa excepcional no correr destas pesquisas. As três lâminas com esfregaços desse material foram positivas: na primeira encontrei uma globia

e muitos bacilos isolados; na segunda, uma célula com sete bacilos a. a. r. e campos parecidos com os esfregaços de uma das culturas de carrapatos; na terceira lâmina havia uma pequena globia e um pequeno grupo de bacilos. No dia 25-11, inoculei na axila direita dum hamster (*Cricetus auratus*), por via subcutânea, 3 cm3 de emulsão do resto do triturado desses carrapatos. Este animal foi solto ou subtraído do biotério do Instituto.

Fig. 1 — Casal leproso (Sebastião e Benedita) de Rola Moça (Bambuí, Minas), em cujo rancho capturamos barbeiros (*Triatoma infestans*) espontaneamente infectados com o bacilo de Hansen. 1.ª verificação.

Fig. 2 — O Dr. Vandyck fichando o leproso J. A. Luz e sua filha no arraial da Mata (São Gotardo, Minas) em pleno foco de lepra, de barbeiros e carrapatos.
Fotos Dr. Souza-Araujo, de 13 e 18-12-1942.

Em dezembro último, com os Drs. Josefino Aleixo e Vandyck andei visitando leprosos em seus domicílios, no interior do município de São Gotardo, e indagando sobre a frequência de barbeiros e carrapatos nos mesmos. Apesar das chuvas, — época imprópria para coleta de carrapatos, — obtivemos dados muito proveitosos. No arraial da Mata, numa manhã de sol, sentei-me no gramado à porta da casa do leproso Joaquim Antonio Luz (Foto 2) enquanto o Dr. Vandyck o fichava e à sua filha. Em poucos minutos fui atacado por vários carrapatos "Estrela" (*A. cajennense*). O Dr. J. Aleixo não foi parasitado porque se conservou a cavalo. Aquele

rancho de leprosos, assim num foco do mais voraz carrapato do Brasil, nos pareceu perigoso para os seus vizinhos.

Na manhã de 18 de dezembro, em Pimentas, procurou-me no hotel o leproso Olimpio para mostrar dois carrapatos que tinha presos à sua perna esquerda, há cerca de 48 horas. Eram duas fêmeas de *A. cajennense*, arranquei da sua pele apenas o exemplar que estava "inchado" e trazendo para Manguinhos o examinei seis dias após, pelo método rotineiro, encontrando no seu esfregaço muitos bacilos isolados, em feixes e em globias.

*Demonstrações realizadas na Colônia "Santa Fé".*

O Dr. José Mariano, diretor da Colônia "Santa Fé", de Três Corações (Minas Gerais), me declarou, francamente, que não acreditava que o carrapato mudasse de hospedador, i. é, que retirado dum animal "pegasse" no homem ou retirado dum indivíduo humano pegasse noutro. Após as experiências abaixo relatadas, que realizámos juntos, de 25 a 30 de março de 1943, ele mudou de atitude. Essas experiências foram assistidas, tambem, pelo Dr. Almeida Junior (em parte), diretor do Dispensário de Lepra de Três Corações e pelos técnicos de laboratório dos dois estabelecimentos: leprosário e dispensário.

As experiências foram feitas nos doentes Gabriel, Romeu, Sebastião, David e Agripino (este enfermeiro). Os resultados foram positivos para os quatro primeiros e negativo para o último. No mesmo período ingressaram na Colônia dois doentes parasitados espontâneamente, por ixódidas, o que frequentemente ocorre nos leprosários que tenho visitado, no interior da país.

1 — Gabriel M. P., preto, de 22 anos de idade, caso L3. Na manhã de 25-3 apliquei, no seu abdome, com aparelho de proteção, três *Amblyomma cajennense* (2 ♂ e 1 ♀), retirados, minutos antes, do cavalo dum visitante que acabava de chegar de lugar distante. Na manhã de 26, estavam presos à pele 1 ♂ e 1 ♀. Na manhã de 27, o macho havia mudado de lugar. Trocámos o aparelho. No dia 30 retirámos da pele do doente os dois carrapatos que o haviam sugado: a fêmea estava bastante aumentada de tamanho e o macho parecia ter o mesmo porte anterior. Ambos foram examinados oito dias após (7/4), em Manguinhos. Três esfregaços da fêmea se mostraram *positivos* e dois do macho, *negativos*.

2 — Romeu S., preto, de 12 anos de idade, caso L3. Na manhã de 25/3 aplicámos na sua região coxo-femural esquerda, com aparelho de proteção, três *A. cajennense* do mesmo lote acima referido. Na manhã seguinte, os três exemplares estavam presos à pele do paciente e um deles cheio. Na

manhã de 27-3, ou sejam 48 horas após a aplicação, retirámos 2 ♀ que estavam enormes, deixando um macho preso à pele. Dez dias após (7/4), examinámos, em Manguinhos, estas duas fêmeas, cujo triturado era constituido quase só de ovos. Os esfregaços deste material foi tambem positivo (raros bacilos).

3 — Agripino R., pardo, de 24 anos de idade, caso L1. Aplicámos no seu peito, com aparelho protetor, quatro *A. cajennense* pequenos, retirados, pouco antes, do burro da carroça da Colônia. Na manhã seguinte (26), três deles estavam presos à pele deste paciente, enfermeiro da Colônia, todos machos, enquanto que a fêmea não pegou. A 27/3, os três machos continuavam presos à pele do paciente e a fêmea havia desaparecido. A 28-3, retirei os três machos da pele do paciente, apesar de apresentarem o mesmo porte anterior. No dia 30, estavam mortos; triturei-os em água destilada esteril e semeei o triturado em cinco tubos de Loewenstein, que continuam em observação. Os dois esfregaços desse material foram negativos. Esta experiência teve dois fatores contrários: o tipo incipiente da lepra do paciente e o sexo masculino do carrapato.

4 — Sebastião, F. S., pardo, de 31 anos de idade, caso L3. Três *A. cajennense* do cavalo acima aludido, 2 ♀ e 1 ♂, sugaram no abdome deste paciente até 27/3. O triturado deles era tão pobre que deu apenas um esfregaço, cujo exame foi *positivo*.

5 — David. Deste doente não possuo informes precisos. Os carrapatos retirados dele também foram positivos à baciloscopia.

## II — TRIATOMÍDEOS

Tendo verificado a facilidade com que os ixodídeos sugam o homem e o rato leprosos, e se infectam com os bacilos de HANSEN e de STEFANSKY, resolvi fazer experiências com outros hematófagos, — os triatomídeos, — tambem muito abundantes em todos os paises da América tropical, onde a lepra impéra como terrivel endemia.

Comecei essas experiências a 30 de novembro de 1942 e já acumulei muitos factos dignos de publicação. No dia 11 de janeiro último, comuniquei à Sociedade de Biologia do Brasil, reunida em sessão ordinária, sob o título "Infecção espontânea de Triatomídeos (*T. megista* e *T. infestans*) com o bacilo de Hansen", as primeiras verificações feitas (dezembro de 1942) em dois municípios de Minas Gerais (Bambuí e São Gotardo). Essas verificações nos levaram a insistir nas experiências anteriormente iniciadas e que vão descritas na segunda parte deste capítulo.

*Infecção espontânea de Triatomas em leprosos.*

No dia 13 de dezembro de 1942, com os Drs. Orestes Diniz (Chefe do Serviço de Profilaxia da Lepra do Estado de Minas Gerais) e Josefino Aleixo visitei, no bairro Rola Moça (Bambuí, Minas), um casal de leprosos ativos (Sebastião e Benedita, foto 1, que haviam chegado há quatro meses de Diamantina), em cuja cama capturámos uma fêmea e no baú de roupa limpa várias larvas de *Triatoma infestans*. As fezes da fêmea, examinadas em Manguinhos 10 dias após (23/12), revelaram raros bacilos a. a. r. e elementos cocoides corados em roxo escuro, dispostos em massas, que depois verifiquei serem frequentes em tais insetos. Essa fêmea forneceu ovos, cujas larvas, criadas no meu laboratório, me serviram para várias experiências, até 15 de maio atual.

Alimentada essa fêmea em pombo, o Dr. Emanuel Dias verificou não estar ela infectada com *Trypanosoma cruzi*, Chagas 1909. Sacrificada a 23/2 fiz esfregaços do seu conteúdo intestinal, encontrado, num deles, uma massa de bacilos a. a. r. homogêneos, dispostos em duas palissadas, uma de nove e outra de 10 elementos. Esse campo foi desenhado pelo Sr. Raimundo Honório.

Três das larvas deste lote de Rola Moça foram tratadas pelo ácido sulfúrico a 5 %, lavadas, trituradas e semeadas em Loewenstein a 23/12. Os esfregaços deste triturado foram negativos à baciloscopia.

No dia 26/12, outra larva foi dissecada sobre lâmina, dando um esfregaço sanguinolento, que, corado pelo Z-N revelou massas de bacilos, cocoides e grânulos a. a. r., de aspecto atípico.

Ao lado da casa daquele casal visitámos, na mesma ocasião, duas leprosas ativas (Carlota e Ana), em cujo quarto capturámos uma grande ninfa de *T. infestans*, cujo exame microscópico, feito em Manguinhos a 23-12, foi negativo para bacilos de Hansen. Apesar disso, fiz semeaduras do seu triturado, após prévio tratamento pelo método de Petroff. Numa das lâminas do triturado encontrei bacilos cianófilos, alguns dos quais granulosos.

A 9 de janeiro examinei as fezes dum grande exemplar macho de *Panstrongylus megistus* (Burm., 1835), capturado a 26-12-42 na casa do leproso José G. (Caso L3-N2 segundo a nota acompanhante), agricultor no interior do município de São Gotardo (Minas) e gentilmente remetido a mim pelo Dr. Vandyck del Favero, leprólogo recenseador do Serviço Nacional de Lepra. Esse exame revelou raros bacilos a. a. r. Três dias após, este barbeiro morreu, depois de ter sugado um rato leproso.

No dia 29/1 recebi de Bambuí, remetidos gentilmente pelo Dr. LASMAR, cinco barbeiros, todos da espécie *T. infestans*, com a nota de terem sido capturados na casa do casal leproso de Rola Moça, acima referido. Chegaram todos mortos e secos e os seus exames para bacilos a. a. r. foram negativos.

No dia 22 de fevereiro recebi de Bambuí (Minas) gentilmente remetidos pelo Dr. JOSÉ ELIAS LASMAR, setc barbeiros (*T. infestans*), sendo dois adultos (fêmeas, pondo), uma ninfa, três larvas de terceira muda e uma recem-nascida. A sua captura foi feita a 13 de fevereiro na casa do já referido casal leproso Sebastião-Benedita, de Rola Moça. Tratando-se de intenso foco de doença de Chagas, entreguei esses barbeiros ao Dr. ALVARO PINHO SIMÕES, da Divisão de Estudo de Endemias do I. O. C., para pesquisar o *Trypanosoma cruzi*, a qual pesquisa foi negativa. Dos esfregaços das fezes desses insetos somente um, dum exemplar adulto, foi positivo para germes a. a. r., alguns bacilos homogêneos, cujo campo mostrei aos meus colegas de Manguinhos Drs. TRAVASSOS e WERNECK. No esfregaço duma larva desse lote (de 2.ª fase) o Dr. H. LINHARES encontrou, no dia 23/2, uma massa de elementos intensamente corados pelo ZIEHL: bacilos do aspecto do de HANSEN, outros curtos e grossos, tambem a. a. r. e massas de elementos cocoides, corados em violeta escuro, estes parecendo tratar-se de parasito normal do inseto, iguais aos que encontrei anteriormente noutro exemplar adulto e o Dr. SIMÕES diz ter confirmado.

No dia 1 de maio atual, recebi de Tiros (Minas Gerais) gentilmente remetidos pelo Dr. VANDYCK DEL FAVERO, duas ninfas de *P. megistus* capturadas por ele 10 dias antes (21/4) na casa do leproso Joaquim Gonçalves de Oliveira. Decapitei essas ninfas e cortei-lhes as pernas, triturando-as separadamente, após tratamento idêntico ao acima várias vezes referido (PETROFF). Ambas tinham, ainda, bastante sangue, provavelmente humano. Os triturados foram semeados em duas séries de tubos de LOEWENSTEIN e caldo glicerinado.

O exame microscópico desses triturados foi negativo para germes a. a. r., revelando apenas cocoides cianófilos.

No dia 20/5 (15 dias após a semeadura), um tubo de caldo glicerinado da ninfa I apresentava-se límpido mas com tenue véu na superficie, de cor esbranquiçada. O exame microscópico desse véu revelou-me uma cultura pura de bacilos fracamente a. a. r. (do rosado ao vermelho claro), dispostos em palissadas. No dia 22/5 repiquei essa cultura incipiente em LOEWENSTEIN e caldo glicerinado. Talvez ainda fosse cedo demais para tocar nela: veremos.

*Infecção experimental de Triatomídeos em leprosos*

1.ª *Experiência*: 24-10-1942. — Com larvas de *Triatoma sordida* (Stal, 1859), que o Dr. HERMAN LENT teve a bondade de me fornecer, todas criadas no seu laboratório, fiz esta primeira experiência em quatro leprosos, sendo três homens e uma moça, aplicando as larvas sobre lesões cutâneas, de aparência ativa. Nenhuma delas sugou. Um doente (J. B.) caso L3 em regressão, pelo tratamento e a doente Lobélia (caso L2) que se havia prestado, gentilmente, para experiências com carrapatos, bem sucedidas, levaram oito larvas para novas tentativas em suas casas. A 29/10, Lobélia devolveu-me as quatro larvas, das quais duas cheias com o seu sangue, desde há dois dias. Estas duas larvas foram imersas em soluto a 3% de ácido acético, durante 15 minutos, depois bem lavadas em água destilada e trituradas. O sangue obtido foi diluido em água destilada e semeado em 12 tubos do meio de LOEWENSTEIN, que se contaminaram.

O esfregaço desse triturado, corado pelo método de ZIEHL-NEELSEN, revelou raríssimos bacilos ácido-álcool resistentes homogêneos e três pequenos feixes de elementos pleomórficos.

As quatro larvas de J. B. me foram devolvidas com a nota de que não o haviam sugado, mas trituradas tinham sangue. Este triturado, apesar de negativo ao exame bacterioscópico, foi semeado em LOEWENSTEIN, que tambem se contaminou, não obstante ter o material sido tratado pelo ácido acético.

2.ª *Experiência*: 8-12-1942. — Com exemplares adultos de *Rhodnius prolixus* (Stal, 1859), gentilmente fornecidos pelo Dr. HERMAN LENT, fiz esta segunda experiência, aplicando uma fêmea na face interna da coxa direita da joven Alice C. (Caso L2, em regressão, pelo tratamento), que a sugou, enchendo-se em cinco minutos. Levado o inseto para Manguinhos, uma hora depois da sucção cortei-lhe a cabeça, asas e pernas e mergulhei-o em soluto de ácido acético a 3 % (20 minutos) e após três lavagens em água destilada estéril, triturei-o em gral esmerilhado estéril, emulsionando o sangue nele existente em água destilada e semeando-o em 18 tubos de LOEWENSTEIN, que ainda estão em observação. Em dois de quatro esfregaços desse material encontrei raros elementos ácido-álcool resistentes atípicos. Outro exemplar adulto de *Rhodnius* foi aplicado na coxa direita do joven J. Carlos (Caso L3, em início de tratamento), enchendo-se de sangue em poucos minutos. Após cortadas a cabeça, asas e pernas deste inseto, mergulhei-o em soluto a 10 % de soda cáustica (Método de PETROFF), durante 30' e depois de bem lavado em água destilada estéril, triturei-o e semeei o triturado sanguinolento em 18 tubos de LOEWENSTEIN, os quais

ainda estão em observação. O exame microscópico desse material foi negativo para bacilos a. a. r.

A 23/12, fiz nova aplicação de *Rhodnius* em J. Carlos: uma ninfa sugou-o e se encheu em ½ hora e um adulto pouco sugou. Foram ambos triturados, separadamente, após desinfecção pelo ácido sulfúrico a 5 %, durante ½ hora e repetidas lavagens em água destilada estéril. O triturado, apesar de negativo ao exame bacterioscópico, foi semeado em LOEWENSTEIN, de cuja série ainda tenho alguns tubos em observação.

3.ª *Experiência* : — Nos dias 2 e 5 de fevereiro último apliquei na coxa e nádega direitas do leproso Fernando C. P. (Caso L1) seis larvas de *Triatoma infestans* (Klug, 1834), criadas no meu laboratório e provenientes de ovos que eu trouxe de Bambuí (Minas), em dezembro passado. Das seis, cinco sugaram-no até à repleção, mas os seus exames microscópicos foram negativos, continuando em observação as semeaduras em LOEWENSTEIN, feitas com esse material.

Nos dias 6/2 e 11/2, foram colocadas outras larvas dessa espécie, respectivamente em Lobélia e J. Carlos: quatro na primeira e três no segundo. Todas as sete larvas se encheram em poucos minutos. Após o tratamento prévio indispensavel, acima referido, essas larvas foram trituradas, separadamente para cada doente, e os triturados foram semeados em LOEWENSTEIN. Os esfregaços das larvas de Lobélia deram resultado duvidoso e os de J. C. foram positivos para bacilos a. a. r.

4.ª *Experiência* — Na manhã de 13/2, no meu consultório, á rua 13 de Maio, 37, na presença dos Drs. NELSON SOUZA CAMPOS e LAURO DE SOUZA LIMA, — lideres dos leprologistas de São Paulo, — e auxiliado pelo meu Assistente Clínico Dr. JOIR FONTE, apliquei na coxa direita de "J. Carlos" (Caso L3, em regressão pelo tratamento), oito larvas (de 1.ª fase) de *Triatoma infestans* criadas no meu laboratório, e na sua coxa esquerda um exemplar adulto ( ♀ ) (mãe dessas larvas) que capturei, com o Dr. ORESTES DINIZ, 60 dias antes (13/12/42), em Bambuí. Das oito larvas, sete sugaram imediatamente o enfermo, enchendo-se em cinco minutos. O adulto sugou-o durante mais tempo e a prova que fez um repasto completo temos no facto de haver, mal largou o enfermo, defecado (fezes negras como tinta da China). Dentro de duas horas da sucção, sem nenhum tratamento prévio, aspirei, com pipetas capilares, o conteúdo intestinal dessas larvas e semeei-o em vários tubos de LOEWENSTEIN.

Os exames dirétos destas larvas, por esfregação do que delas restava em lâminas, fixação e coloração como de costume, resultaram negativos, o que me causou espécie e deu motivo a várias consultas entre os especialistas de bar-

beiros e doença de Chagas, de Manguinhos, e cujas opiniões, apareceu nos comentários sobre este capítulo. Não obstante este exame direto negativo, mês e meio após a semeadura desse material começou a germinar algo num

Fig. 3 — Sebastião Teixeira, 28 anos (Minas Gerais). As flechas indicam dois lepromas no punho esquerdo, sôbre os quais larvas e ninfas de *Triatoma infestans*, criadas no laboratório da Divisão de E.E. do I.O. Cruz, sugaram e se infectaram experimentalmente com o bacilo de Hansen.

Fig. 4 — Seis das nove ninfas e larvas de *Triatoma infestans* que sugaram nos lepromas ulcerados pela diatermocoagulação e na sua vizinhança em 24-5-43. Foto J. Pinto.

tubo de LOEWENSTEIN, o qual, no 56.° dia mostrava uma colônia do tamanho da cabeça dum grande alfinete e dez pequenas, todas de cor amarela. O exame microscópico dessa cultura, feito a 8/4, revelou tratar-se duma cultura pura de cocobacilos ácido-álcool resistentes. Na 2.ª geração, em LOEWENSTEIN, a

cultura mostra-se pura mas predominando os elementos cocoides (Repicagem de 8/4). Na cultura de terceira geração (Repicagem de 22/4) o exame confirmou a morfologia de cocobacilos, fortemente ácido-álcool resistentes.

O exemplar adulto que serviu para esta quarta experiência foi sacrificado 10 dias após (23/2) e do seu conteúdo intestinal, pobre, fiz três esfregaços : o primeiro, mostrou apenas um bacilo a. a. r., o segundo, foi negativo e o terceiro revelou uma massa de bacilos homogêneos, com perfeita ácido-resistência.

5.ª *Experiência* — Nos dias 18 e 20/2, apliquei outras larvas de *T. infestans*, da criação do meu laboratório, na face esquerda e nos flancos da doente Maria de J. F. (Recém-chegada do Piauhy, caso L1 no rosto e tendo nos flancos e dorso lesões de aspecto tuberculoide, porém com linfa positiva).

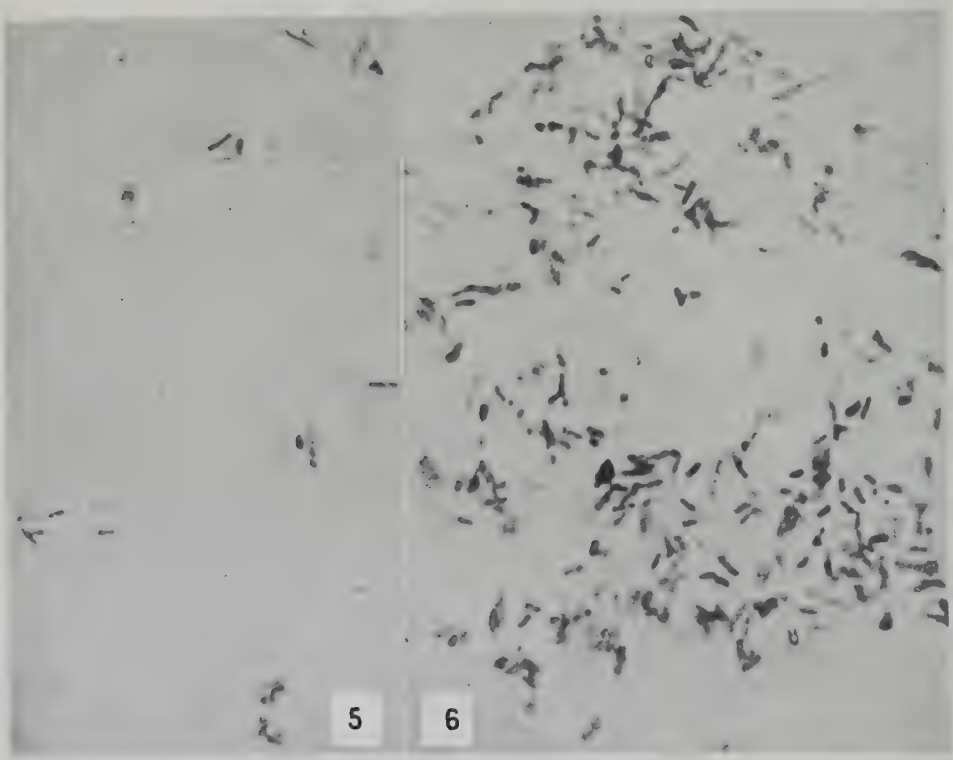
Nas duas oportunidades as larvas sugaram-na até à repleção mas foram negativas ao exame microscópico.

6.ª *Experiência*: 10-3-43. — Apliquei oito larvas de *T. infestans*, criadas no meu laboratório, numa mácula eritematosa da região coxo-femural direita de J. Fernandes (Leproso de 46 anos de idade, negativado há três anos duma lepra lepromatosa e agora com recaída, apresentando máculas eritematosas múltiplas, cuja linfa cutânea e suco, examinados por mim, se mostraram fortemente positivos, mas o exame histopatológico feito pelo Dr. H. PORTUGAL revelou um *granuloma tuberculoide discréto*). Das oito larvas, cinco sugaram o enfermo até à repleção e outras duas no dia seguinte, quando foram cinco delas tratadas pelo método de PETROFF, trituradas e semeadas em meio de LOEWENSTEIN. O esfregaço do triturado revelou apenas um bacilo a. a. r. homogêneo. No dia 13/3, as duas larvas restantes, as menores, de primeira fase, foram dissecadas sobre lâmina, fixada e corada imediatamente pelo Z-N, esfregaço esse que revelou seis bacilos a. a. r. típicos e alguns atípicos. As semeaduras estão estereis.

7.ª *Experiência* : 15-3-43 — Apliquei sobre infiltração lepromatosa do dorso de L. Bassini cinco larvas de *T. infestans*, do lote criado no meu laboratório, dos exemplares trazidos por mim de Bambuí (Minas), as quais sugaram-no até se encherem. Uma hora depois, submetí-as ao tratamento habitual, pelo método de PETROFF e triturei-as em gral esmerilhado, com algumas gotas de água destilada. O triturado sanguinolento foi semeado em 10 tubos de LOEWENSTEIN e dois de caldo glicerinado a 5 %. Dois esfregaços feitos com o resto do triturado mostraram elementos a. a. r. A linfa cutânea, colhida pelo método LLERAS, no ponto onde as larvas sugaram o enfermo, mostrou-se fortemente positiva, apresentando massas de cocoides a. a. r. (Cujas microfotografias teem os ns. 4 e 5 na página 62 da "Acta Médica". ns. 4-5, 1943).

A 19 de abril (34 dias após a semeadura), os dois tubos de caldo glicerinado apresentavam tênue depósito amarelado e por agitação uma poeira

amarela impregnava o meio, antes completamente limpido, indicando tratar-se de cultura pura de germes a. a. r. Um esfregaço desse caldo revelou pequenas massas de elementos cocoides a. a. r., idênticos aos por mim encontrados na linfa do respectivo doente. Verificada essa germinação repiquei a cultura em LOEWENSTEIN e caldo glicerinado a 22/4. No dia 20/5, o re-exame da cultura original mostrou maior riqueza de germes ácido-álcool resistentes e o meio tem a aparência duma solução coloidal: com tenuíssimos flocos so-

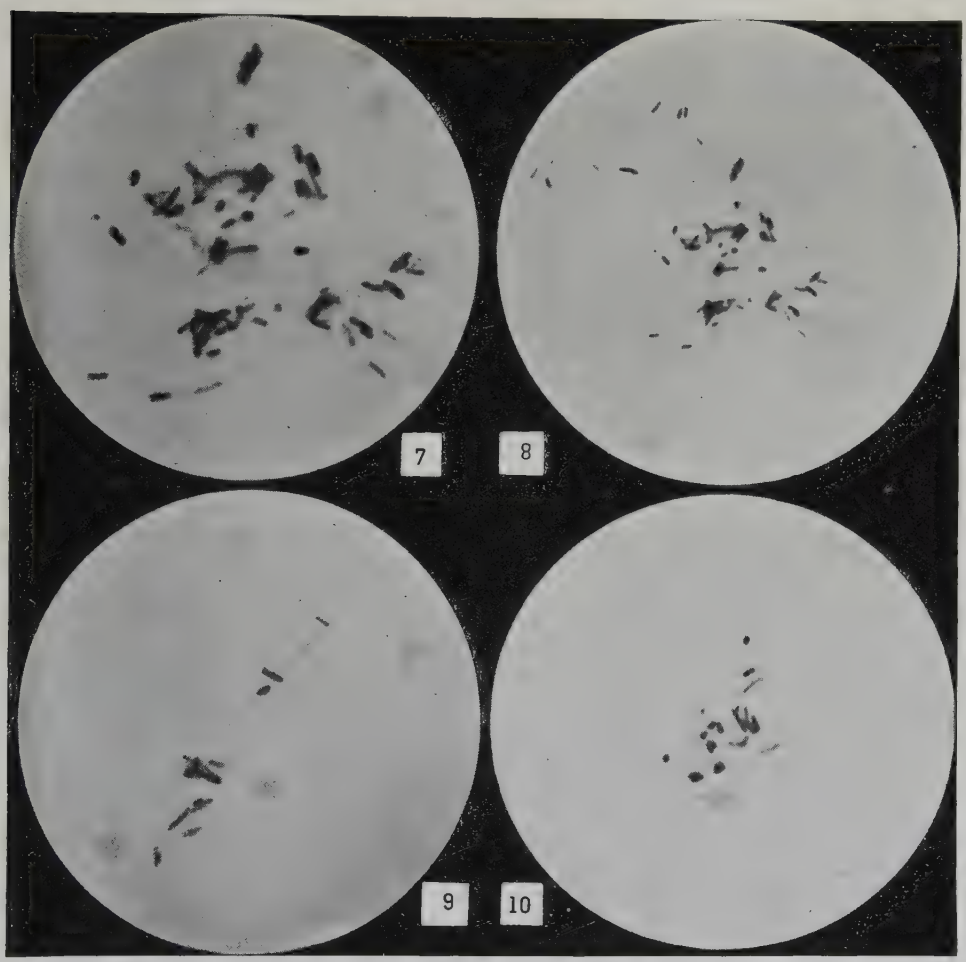



Figs. 5 e 6 — Microfotografias mostrando bacilos da lepra isolados, em feixes e aglomerados, em esfregaços de larvas de segunda fase, infectadas a 15-5-43 sobre lepromas de Sebastião Teixeira (Fig. 3).
Microfotos de J. Pinto.

brenadando-o. A cultura está pura e é a segunda que obtenho de barbeiros infectados em leprosos.

8.ª *Experiência* : 15-5-43 — Duas larvas de *T. infestans*, as últimas do lote criado no meu laboratório, e nascidas a 29/1, foram aplicadas na data acima, por mim, entre dois lepromas floridos da face anterior do punho esquerdo de Sebastião T. (Caso L2, de 28 anos de idade, virgem de qualquer tratamento antileprótico e recem-chegado do interior de Minas Gerais). Essas

larvas, que estavam famintas, sugaram o enfermo imediatamente e se encheram num par de minutos. Trazidas para Manguinhos, submetí-as ao habitual tratamento pelo método de PETROFF, — que me tem dado melhores resultados em todas as pesquisas bacteriológicas especializadas, — triturei-as separada-




Figs. 7 a 10 — Microfotografias representando vários campos de outro esfregaço de larva de *Triatoma infestans* infectada em S. Teixeira a 15-5-43. "Ultraphot Zeiss" aumentos de 1.800 a 2.000 (reduzido nos clichés).
Microfotos de M. Cesar.

mente, e os triturados foram semeados em LOEWENSTEIN (infelizmente seco) e caldo e batata glicerinados. Os esfregaços do restante desses triturados revelaram abundantes bacilos ácido-álcool resistentes, homogêneos, uns isolados, outros em pequenos grupos e também em grandes massas. (V. fotos.)

Foi esta a primeira vez que obtive material tão rico em bacilos da lepra em larvas de barbeiros.

*Comentários sobre as experiências com barbeiros.*

O parasitismo experimental de leprosos por meio de barbeiros, de preferência da espécie *Triatoma infestans*, em qualquer dos seus estádios, é operação facil, elegante, indolor e dura apenas cinco minutos. Neste curto espaço de tempo o inseto está cheio de sangue, larga o paciente e, regra geral, defeca acto contínuo. Entretanto os resultados positivos estão muito abaixo da espectativa. Isto me fez observar reiteradamente como o parasito se comporta durante o repasto. As larvas somente sugam em posição perpendicular ou oblíqua, com as patas na tira de papel de filtro do tubo BORREL, em que se encontram. E mesmo assim elas só introduzem na pele pequena parte da trompa; em posição horizontal parecem não ter geito ou força para perfurar a pele. As ninfas e adultos dão a impressão de introduzirem a trompa mais profundamente, porem operam melhor, tambem, em posição oblíqua.

A quantidade de sangue que se obtem é bastante consideravel, permitindo-nos conservar o inseto no tubo, sem outro repasto, durante 10 ou mais dias, de modo a se fazerem repetidos exames das suas fezes, antes de sacrificá-lo. Depois dalgumas experiências negativas, indaguei de vários colegas de Manguinhos, que trabalham em "Doença de Chagas", em que camada da pele os barbeiros sugam o sangue. O assunto não lhes tinha interessado. E. DIAS disse-me que o inseto fazia com a trompa uma espécie de palpação e a introduzia diretamente no vaso sanguíneo; SIMÕES, ouvindo as minhas considerações, disse lhe parecer que o inseto só introduz na pele o primeiro segmento da trompa; e M. TORRES respondeu que esse inseto sugava nas papilas. As minhas observações e estes informes parecem justificar a predominância dos resultados negativos. Nas figs. 11 e 12 vemos, segundo MAC CLEOD (6) e FR. SIGMUND (7) na camada cilíndrica ou geradora os espaços reservados aos vasos sanguíneos nutritivos, que penetram nas papilas dérmicas, formando aí alsas muito ramificadas. E' aí, segundo M. TORRES, que os barbeiros sugam. Ora, regra geral aí não existem bacilos da lepra. Nos casos de infiltração lapromatosa difusa, que foram os preferidos para essas experiências, os bacilos estão no derma, bastante abaixo das papilas, como se vê na fig. 13 de DOCKRELL (8). Pelos meus últimos estudos, é nos espaços linfáticos do derma que estão alojados e se multiplicam os bacilos de HANSEN. Entretanto, na oitava experiência, tive resultado fortemente positivo, aplicando duas larvas de segunda fase, sobre dois lepromas floridos do punho esquerdo dum doente de 28 anos, virgem de qualquer tratamento. Numa segunda experiência feita no mesmo doente, consegui que nove ninfas e larvas de *T. infestans* sugassem

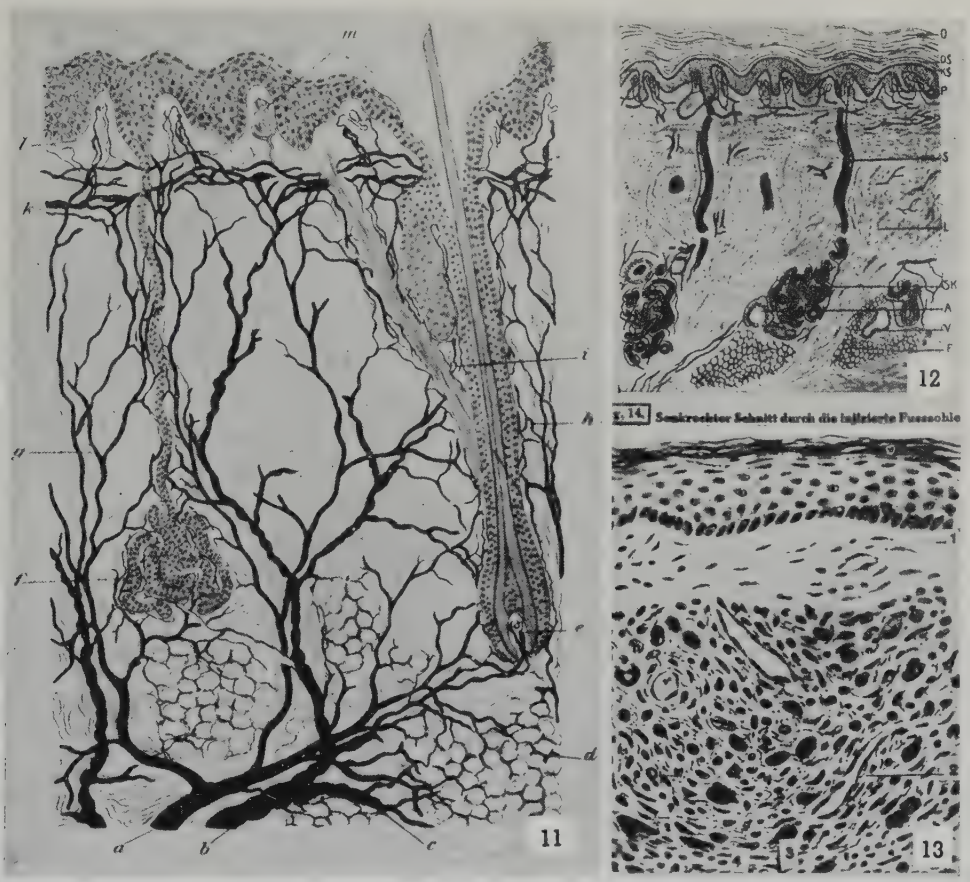



Fig. 11 — Distribuição dos vasos sanguíneos da pele (semi-esquemático) segundo J.M.H. Macleod: a — Grande ramo arterial no septo interiobar do tecido subcutâneo. b — Grande veia. c — Veia interlobar. d — Capilares entre as células gordurosas. e — Alsa capilar da papila do pelo. f — Retículo capiiar entre as glândulas sudoriparas. g — Ramos verticais das alsas vasculares do canal escretor das glândulas sudoriparas. h — Alsas terminais do folículo piloso. i — Dito da glândula sebácea e músculo *Arrector pili*. k — Plexo sub-papilar. 1 — Alsa capilar da papila e m — Corpúsculo tactil.

Fig. 12 — Estrutura da pele segundo Fr. Sigmund: O — Camada cornea. DS — Camada lúcida. P — Papilas do derma com as suas alsas vasculares. S — Canal escretor duma glândula sudoripara. L — Derma. SK — Glomerulo duma glândula sudoripara. A — Artéria. V — Veia. F — Tecido adiposo intermeiado de capilares sanguineos.

Fig. 13 — Histopatologia duma infiltração lepromatosa segundo Deckrell (O original é em tricromia e representa um corte corado pelo Z-N.). As principais alterações são na epiderme, onde não se vê nenhum bacilo. No derma os bacilos dominam o campo e se apresentam isolados, em feixes e em globias inúmeras. 1 — Papilas achatadas. 2 — Bacilos em redor das paredes do vaso. 3 — Globia bacilar (todas essas bolas em negro na fotocópia). 4 — Bacilos nos espaços linfáticos. 5 — Plasmazellen. 6 — Globia.

nas bordas ulceradas desses lepromas (dias após a diatermocoagulação) e na pele que os separa. Os resultados desta nova experiência e das correlatas, serão incluidas em adendo de última hora, si possivel.

III — CULICÍDEOS

Os tratados e manuais de leprologia dão a HENRY LÉLOIR (1886) a prioridade da hipótese da transmissão da lepra pelos mosquitos, entretanto EDUARDO ARNING (9) credita-a a outrem, quando ele já investigava sobre o assunto, antes daquele ano. No seu memoravel "Report on Leprosy", datado de Honolulu, 14 de novembro de 1885, ARNING diz :

> *"Another point which has been raised is the possibility of the leprous virus being conveyed by mosquitoes. I am at present occupied with investigating this subject."*

Em 1890 ARNING (10) publicou o seu relatório sobre essas investigações, dizendo ter examinado centenas de mosquitos, *capturados em leprosos*, sem nunca encontrar neles siquer um bacilo da lepra. Entretanto, em 1891, ele (11) endossa, num Congresso Científico realizado em Berlim, a crença de que a lepra e os mosquitos invadiram o arquipélago do Hawaii *quase ao mesmo tempo*. Á página 62 do meu livro "A Lepra em 40 paises" (1929) encontra-se documentada refutação a esse capítulo da epidemiologia da lepra.

De 1886 a 1912, foram dezenas os médicos tropicalistas, dermatólogos e higienistas que defenderam a hipótese culicidiana da transmissão da lepra, entretanto poucos dados experimentais foram publicados sobre o assunto, convindo referir aquí os mais importantes. F. NOC (12) diz ter examinado, entre 1901 e 1902, na Nova Caledônia, 150 mosquitos (*Culex* sp?) que picaram leprosos em estado avançado e encontrou bacilos a. a. r. em cerca de 50 % deles. GOODHUE (13) capturando muitos exemplares de *Culex pungens* nas casas dos leprosos de Molokai, encontrou nuns poucos deles inúmeros bacilos e BRINCKERHOFF (1908), seu colaborador naquele velho leprosário, pelas suas valiosas observações disse acreditar que o mosquito se infectando no leproso podia contaminar as pessoas sadias, pelas fezes.

Por proposta da Delegação Britânica, a 2.ª Conferência Internacional da Lepra (Bergen, 1909), na sua VI conclusão recomenda :

> *"Il est désirable que la question de la transmission de la lèpre pat les insects soit élucidée..."*

Infelizmente não foi designada uma comissão para realizar esses estudos.

Em 1910 DONALD H. CURRIE (14) publicou impressionantes resultados negativos das suas experiências feitas no Hawaii. De 493 mosquitos (*Culex*

*cubensis* e *Stegomyia callopus*) capturados cheios de sangue, em quartos de 11 leprosos da forma nodular, nenhum revelou bacilo ao exame microscópico, assim como o exame de 67 *Stegomyias* (hoje *Aedes aegypti*), que ele fez sugarem lepromas em dezenove experiências, foi negativo, levando CURRIE a supor que esses insetos sugam diretamente nos vasos sanguíneos e assim obteem sangue livre de bacilos e de linfa. Entretanto CURRIE conclue que, quando os mosquitos contiverem bacilos :

> *"... the mechanism for the transfer of the bacilli is complete and the insect may be a factor in the transmission of the disease."*

Em 1912, LEBOEUF (15) retomou os estudos de NOC, na Nova Caledonia, examinando 18 mosquitos apanhados nos dormitórios de leprosos com a temperatura normal (37°C.) e só encontrou dois bacilos a. a. r. num deles. Fez picar vários doentes tuberosos por mosquitos capturados na natureza ou criados no laboratório, 28 dos quais sugaram sobre lepromas e apenas um deles foi positivo à baciloscopia. Tomou, então, um leproso febril, com bacilemia, e aplicou sobre ele muitos mosquitos, dos quais 25 *Culex* sp. sugaram-no em zonas de pele aparentemente sã, com resultado *positivo*.

LEBOEUF concluiu que os mosquitos podem absorver bacilos de HANSEN quando picam um leproso em período de bacilemia, mas não os transmitem à pessoa sadia. No mesmo ano NOC (16) respondeu a LEBOEUF dizendo que das suas pesquisas realizadas na Nova Caledónia, entre 1900 a 1902 :

> *"Il en est resté un fait positif, c'est qu'on peut rencontrer des bacilles de Hansen dans le tube digestif des* CULEX *sp ? en Nouvelle Calédonie. On en peut tirer une déduction, c'est que, quels que soient le petit nombre de bacilles trouvés et le petit nombre de Culex porteurs de bacilles, il est néanmoins difficile de rejeter d'une façon absolue l'intervention de ces insects, par des inoculations souvent répétées, dans la transmission de la lèpre."*

F. NOC incriminava sobretudo a *Stegomyia fasciata* e o *Culex fatigans*.

Ainda no Hawaii, em 1914, ST. MOURITZ (17) publicando os resultados dos seus estudos e experiências disse que os mosquitos *não são um*:

> *"... active factor in spreading leprosy in Hawaii"* e concluiu : *"If the mosquito spreads leprosy we would have more lepers, and leprosy would not be confined to one race..."*

a raça havaiana, no caso.

Em 1915, ADOLPHO LUTZ afirmou perante a Comissão de Estudos da Lepra (designada pelas sociedades sábias do Rio de Janeiro) o seguinte :

> "A impossibilidade da cultura do germe da lepra na temperatura ambiente indica a sua transmissão por um sugador de sangue... "Culpo principalmente os dipteros hematófagos e deles as duas únicas espécies existentes nas ilhas do Hawaii — *Culex fatigans*, aí introduzido em 1828, e a *Stegomyia fasciata*, que lhe é posterior...
>
> "Os mosquitos só ingerem bacilos quando picam indivíduos febris com bacilemia."

Em 1916, GEORGE W. MCCOY respondendo a uma consulta da Comissão de Saude Pública do Senado dos Estados Unidos (sessão de 16-2-1916) sobre se a lepra é transmissivel por insetos, disse:

> "Muitos advogam esta teoria. Fizemos muitos estudos nesse sentido, na Estação Experimental de Lepra em Hawaii, e *não obtivemos nenhum raio de luz sobre o problema.*"

Nesse mesmo ano de 1916, reuniram-se a LUTZ, para defender a já então chamada "teoria culicidiana de transmissão da lepra", EMILIO RIBAS, diretor do Leprosário de Guapira (S. Paulo), o maior do Brasil na época, EMILIO GOMES, bacteriologista do Hospital dos Lázaros do Rio de Janeiro e HENRIQUE ARAGÃO colega de LUTZ em Manguinhos, e notavel pesquisador. Esses quatro cientistas reunidos estavam em condições privilegiadas para resolver, experimentalmente, a questão, e não o fizeram, lamentavelmente.

Dos estudos de LEBOEUF, na Nova Caledônia, em 1912, até as pesquisas de VEDDER, em 1928, nas Filipinas, houve um longo período "negativo". Entretanto falava-se em transmissão da lepra pelos mosquitos como se todas as evidências científicas tivessem sido obtidas.

A Conferência Americana da Lepra, realizada no Rio de Janeiro em 1922, votou conclusões técnicas das quais a terceira estabelecia que no combate à lepra "fossem tomadas todas as providências de ordem técnica que atendessem as diversas doutrinas em litígio, relativas à transmissão da lepra", e no Regulamento Sanitário Federal, aprovado pelo decreto n. 16.300, de 31 de dezembro de 1923, figura a profilaxia culicidiana como medida capital no combate à lepra.

A III Conferência Internacional de Lepra realizada nesse ano, em Strasburgo, não cogitou do assunto em suas recomendações ou conclusões.

Em 1928, o Coronel EDWARD B. VEDDER (18), do Serviço Médico do Exército Norte-americano, publicou, nas Filipinas, uma notavel *mise au point* sobre este debatido assunto, concluindo que (pág. 226) :

*"From this summary of the literature it is evident that leprosy may be transmitted by a wide variety of biting insects and skin parasites."*

VEDDER procurou resolver o assunto experimentalmente, aplicando, dias seguidos, sobre lesões baciliferas de 10 leprosos do Hospital dos Lazaros de Manila, exemplares de *Stegomyia* criados no laboratório. Imediatamente após a sucção, fazia esfregaços do sangue abdominal desses insetos, cujos exames revelaram bacilos da lepra em 41 % deles. Muitas vezes encontrou tambem globias. Os exames dos mosquitos de controle foram negativos para qualquer bacilo a. a. r. Selecionando os doentes e fazendo esses mosquitos sugar sobre lesões baciliferas, VEDDER acha possivel obter-se 100% de resultados positivos. Ele tentou infectar o homem pela picada daqueles mosquitos mas não chegou a conclusões por deficiência de tempo na observação.

A Conferência da Lepra realizada no Sião, em 1930, promovida pela Liga das Nações, traçou um plano de profilaxia dessa dermatose sem tomar em consideração os hematófagos como seus possiveis transmissores. Igual atitude tomou a Conferência da Lepra de Manila, realizada em janeiro de 1931, sob o patrocínio da *Leonard Wood Memorial for the Erradication of Leprosy* (hoje *American Leprosy Foundation*).

No I Congresso Internacional de Lepra, realizado em março de 1938 no Cairo, promovido pela *International Leprosy Association* e pelo governo do Egito, foi estabelecido que :

*"The present conception (being) that leprosy is an infectious disease spread principally by direct contact..."*

Do total de 160 trabalhos lidos ou encaminhados a esse Congresso apenas *um*, o de ADOLPHO LUTZ (19), intitulado : *"No control of leprosy without anti-mosquito campaign"*, abordou o papel do mosquito na transmissão da lepra. Ele disse categoricamente que o controle (no sentido de dominio) da lepra somente pode ser feito por uma campanha regular e geral contra os mosquitos. Neste trabalho LUTZ se mostrou mais eclético que nos anteriores, quando recomendou que cada leprocômio devia ter um técnico incumbido da *supressão* dos mosquitos e outros parasitos hematófagos (*for the suppression of mosquitoes and other blood-sucking parasites*).

Sobre este trabalho assim se manifestou o Dr. H. W. WADE (20) em relatório especial publicado nas Filipinas, sobre o referido Congresso :

*"A bizarre note was introduced by Lutz (Brazil) in the thesis that can be "no control of leprosy without an antimosquito control".*

WADE empregou o termo *bizarro* no sentido de *fantástico* e LUTZ quando leu esse julgamento incortez do grande leprólogo americano ficou furioso e me declarou que WADE, eu e todos os demais leprólogos eramos cegos...

LUTZ morreu com a sua crença, em 1940.

Em 1942 reuniu-se na Índia uma grande Comissão Técnica para emitir parecer sobre o problema da lepra alí e indicar os meios de combatê-la.

No final do Capítulo II do seu Relatório (folheto de 70 pág. Vide "Leprosy in India", Vol. 14, pág. 74), intitulado: *"Leprosy and its Control in India"*, lê-se :

> *"Opinion is unanimous that leprosy is infective, spreads chiefly if not entirely by direct contact..."*

Isto quer dizer que a opinião dos leprologos é unanime em admitir que a lepra, doença infectuosa, é transmitida *principalmente* (como doutrinou o Congresso do Cairo) *si não exclusivamente por contacto direto!*

Há mais de 10 anos que se estabeleceu como *dogma* em epidemiologia que a convivência íntima e prolongada com os leprosos abertos é o único factor da disseminação da lepra. Participei dessa crença até 1939 quando visitei os principais focos de lepra dos paises sul-americanos e aquí chegando retomei o estudo dessa dermatose *in loco*, nos seus focos rurais.

Hoje aquela convivência *íntima e prolongada* não mais satisfaz inteiramente o meu espírito. E' tão extensa e alarmante a propagação da lepra na zona rural do nosso país e nas zonas suburbanas da Capital Federal, que deve haver algo mais do que *convivência íntima e prolongada*, deve haver, como diz VEDDER: *uma grande variedade de insetos hematófagos e ectoparasitos capazes de transmitir a lepra.* Naturalmente, esses vectores agem *à la longue* exigindo aquela convivência íntima e prolongada do indíviduo são com o leproso para que, em repetidas sucções, ora num ora noutro, eles possam completar a sua maléfica tarefa.

*Experiência pessoal com mosquitos.*

Em fevereiro de 1940 iniciei, em Manguinhos, com o Dr. OLIVEIRA CASTRO, e os aplausos de LUTZ, experiências visando infectar 20 exemplares de *Culex fatigans*, criados por ele no seu laboratório, com bacilos de STEFANSKY. A primeira tentativa foi parcialmente satisfatória, em mosquito que morreu antes do 10.º dia de infecção, e negativa em todos os que morreram do 13.º ao 28.º dias. A continuação dessa experiência foi postergada por vários motivos.

Em maio de 1941 capturei, nos dormitórios da Colônia de Itanhenga, de leprosos acamados, 107 mosquitos, dos quais selecionei 30 dos mais cheios de sangue (24 do gênero *Anopheles* e seis do gênero *Culex*), dissequei-os sobre lâminas, cujos esfregaços revelaram apenas raríssimos bacilos a. a. r. em três deles (10 %). Na publicação que relatei esse fato (21) eu disse :

> "Por este resultado não se pode chegar a nenhuma conclusão, mas, dada a abundância de mosquitos alí, convem insistir na experiência, de um modo sistemático, até esclarecer o assunto."

E logo em seguida:

> "Agora que existem no Brasil vários leprosários na zona rural, onde a abundância de mosquitos deve ser igual à de Itanhenga, vale a pena retomar-se o tema com o fito de esclarecê-lo de uma vez por todas."

Apesar dessa sugestão nenhum diretor de leprosário tomou a iniciativa.

Retomei essas pesquisas, com o Dr. José Mariano, na Colônia Santa Fé (Minas). Procuramos observar como o facto se passaria na natureza, em se tratando de leprosos vivendo na zona rural. Na manhã de 26 de março de 1943 levamos um grupo de doentes, dentre os quais alguns lepromatosos em último grau e outros mais moderados, à lagoa da margem direita do Rio do Peixe, à cerca de 1 km do leprosario. O fim era capturar, na lagoa, sanguessugas, e fora mosquitos. Enquanto vigiava os mosquitos que sugavam nos doentes, para capturá-los, fui picado por dois deles, grandes e vorazes, os quais capturei e aquí no Rio o Dr. Oliveira Castro classificou como fêmeas de *Psorophora* (*Psorophora*) *ciliata* (Fabr. 1794). Nos enfermos capturei vários exemplares desse gênero e de outros. Eram 9 horas, fazia sol intenso e não obstante isso os mosquitos abundavam.

No dia seguinte, 27 de março, à hora crepuscular, o Dr. Mariano, eu e um grupo maior de enfermos sentamo-nos à margem do Rio do Peixe, atrás do cemitério do leprosário. De mangas arregaçadas, fingindo que estavamos pescando, sem impedir que os doentes continuassem fumando, aguardamos os hematófagos, que não tardaram. Todos nós, doentes ou sãos, fomos atacados indistintamente, por mosquitos grandes e pequenos. Havia entre nós dois doentes negros, lepromatosos L3, que classifiquei como *chamarizes*: eram os preferidos pelos mosquitos. Estes insetos sugavam indiferentemente na fronte, orelhas, braços e pernas — sobre lepromas, infiltrações ou na pele aparentemente sã. E enchiam-se de sangue em poucos minutos. Os doentes estavam espalhados, assim é que muitos mos-

quitos terminaram o seu repasto e voaram antes ou no momento da captura. Mesmo assim a caçada foi abundante.

Convem frisar bem que entre os enfermos, que tão amavelmente se ofereceram para essa experiência, não havia nenhum febril ou com ulceras.

Na manhã de 28, encontrei todos os mosquitos que haviam sugado nos doentes, mortos. Tinham sido deixados em tubos de ensaio comuns, à temperatura do laboratório. Regra geral os mosquitos colhidos na natureza, resistem alguns dias nessas condições, por isso essa observação causou-me estranheza.

Com o auxílio do Dr. ALMEIDA JUNIOR, diretor do Dispensário de Lepra de Três Corações, triturei vários exemplares desses mosquitos com água destilada estéril e semeei o seu triturado, com seringa tipo Insulina, estéril, em meio de LOEWENSTEIN. Muitos desses tubos continuam na estufa a 37°C. Três esfregaços desses triturados revelaram uma riqueza inesperada em bacilos da lepra, isolados, em feixes, globias e massas.

Os lotes de mosquitos infectados, todos fêmeas, trazidos para o Rio, foram gentilmente classificados pelo Dr. OLIVEIRA CASTRO, como segue:

*Psorophora* (*Psorophora*) *ciliata* (Fabr. 1794).
*Psorophora* (*Ianthinosoma*) *varipes* (Coquillett, 1904).
*Psorophora* (*Ianthinosoma*) *ferox* (von Humboldt, 1820).
*Aedes* (*Ochlerotatus*) *crinifer* (Theo., 1903).

Como se vê, em Santa Fé predominam as *Psorophoras*, pelo menos à margem do Rio do Peixe, as quais se mostravam muito vorazes e portanto utilissimas para futuras verificações complementares.

Os exames feitos por mim, em Manguinhos, dos esfregaços desses mosquitos, deram os seguintes resultados:

Mosquitos infectados em: (vários esfregaços de cada):

Benedito A. P. caso L3 — muitos bacilos, globias e massas compactas.

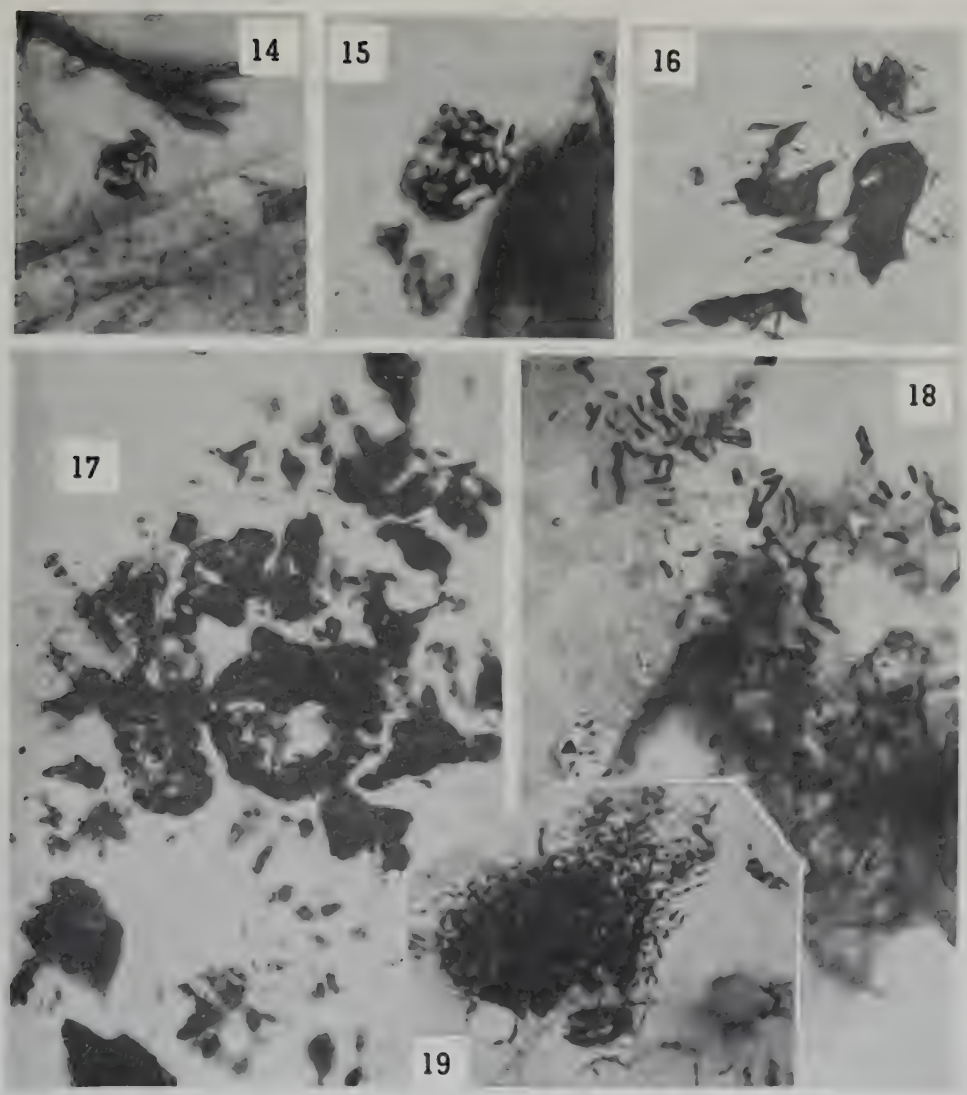
Otávio S. caso L3 — muitos bacilos, globias e massas, inclusive em exemplares nele capturados em 1.° de abril.

Gabriel P., caso L3 — poucos bacilos isolados e um massa com 21.

R. B. Bispo, caso L2 — raros bacilos.

Delcidio R. N. Caso L? — De quatro esfregaços apenas um positivo: raros bacilos.

Três outros exemplares de *Psorophora* sp?, infectados num enfermo lepromatoso e enviados posteriormente pelo Dr. J. MARIANO, tratados pelo método PETROFF e triturados juntos, revelaram, em vários esfregaços,




Figs. 14 a 19 — Microfotos de esfregaços de culicídeos (*Psorophora* sp. sp.) infectados, naturalmente, em leprosos, à beira do rio do Peixe, a 1 km da Colônia Santa Fé (Três Corações, Minas), de 26 a 30 de março de 1943. As figuras 14 e 15 mostram globias isoladas entre detritos de orgãos dos mosquitos. As figuras 16 e 17 mostram massas compactas de bacilos da lepra em esfregaços de duas *Psorophora* (*P*) *ciliata*, o maior mosquito encontrado na região e o mais voraz. A fig. 18 (× 1.800) representa uma massa de bacilos da lepra num esfregaço de triturado de três mosquitos (Psorophora sp?) que sugaram um lepromatoso e enviados pelo Dr. J. Mariano. Na fig. 19 os bacilos de Hansen se apresentam numa massa compacta, como uma cultura, campo do esfregaço dum único exemplar (*Psorophora* sp.).
.... Microfotos de J. Pinto.

massas de bacilos como se fosse uma emulsão de leproma. As figs. de 14 a 19, deste trabalho, dão uma idéia dessa riqueza bacilar, nunca comprovada em mosquitos, anteriormente. Dois meses após a captura, triturei 1 ♀ *Psorophora* (*I.*) *ferox* e 1 ♀ *Aedes* (*O.*) *crinifer* que haviam sugado o doente Benedito, encontrando nos seus esfregaços alguns bacilos. Outro exemplar de *Psorophora ciliata* ♀ , do doente Gabriel P., deu resultado negativo.

## IV — HIRUDÍNEOS

Em seu tratado "Die Lepra, 1930" à pág. 238 VIKTOR KLINGMUELLER (22) informa:

> "DELBANCO: *Blutegel, welche auf Lepromen gesangt haten, enthelten keine Bacillen.* TASHIRO, *in Japan: Blutegel enthalten jedesmal Bacillen.*"

ERNESTO DELBANCO trabalhando em Hamburgo e Y. TASHIRO no Japão chegaram a conclusões opostas: O primeiro diz que sanguessugas que sugaram sobre lepromas não revelaram nenhum bacilo; o segundo diz que as sanguessugas conteem sempre bacilos, mas não informa se na natureza ou se após alimentadas em leprosos. Infelizmente, a bibliotéca do Instituto Oswaldo Cruz não possue as publicações originais desses autores para uma verificação.

Recentemente, em 1937, R. VAN BREUSEGHEM (23) publicou um trabalho que esclarece o assunto. Este autor trabalhando no *"Centre Antilépreux de la Croix-Rouge du Congo"*, em Pawa, região onde existem muitas lagoas e charcos habitados por sanguessugas, e onde os indígenas costumam se banhar, sendo frequentemente parasitados por esses hematófagos, cuja mordedura parece ser indolor e deixa na pele uma ferida triangular, por onde escoa sangue por longo tempo, e sendo os leprosos tambem abundantes entre os nativos, o Dr. VAN BREUSEGHEM resolveu verificar se os hirudíneos poderiam ter qualquer papel na transmissão da lepra. A sua primeira preocupação foi verificar se as sanguessugas eram ou não infectadas, naturalmente, por bacilos a. a. r. Escolheu indígenas isentos de lepra e os distribuiu por nove lagoas, fazendo-os permanecer nágua durante algum tempo. De minuto a minuto eles levantavam as pernas para apanhar as sanguessugas que se encontravam nas mesmas. Assim, obteve o autor 165 exemplares de uma nova espécie de sanguessuga que foi chamada de *Hirudo parvensis*, Sciac. (provavelmente pertencente à família *Gnathobdelliidae*, cujas espécies teem três lâminas maxilares, serrilhadas, com as quais produzem feridas triangulares, como descreve o autor).

Desses 165 exemplares o autor cortou 49, com pinças à forcipressão, em três segmentos, o da cabeça, do meio do corpo e da extremidade caudal, fazendo esfregaços de cada, e 116 seccionou apenas no meio do corpo, aplicando as lâminas sobre as feridas e fazendo esfregaços que eram fixados e corados sem prévia hemolização do material. Em três exemplares, do total de 165, encontrou bacilos a. a. r., sendo que um com inumeros bacilos, exatamente o que proviera da lagoa Egoba, *muito frequentada por leprosos.*

Terminado esse estudo preliminar resolveu o autor alimentar sanguessugas normais em leprosos. Sobre uma placa lepromatosa (cheia de lepromas diz o autor) da nádega duma mulher, chamada Bonzola, aplicou três sanguessugas dum lote de 23 capturadas numa lagoa onde não foram encontradas sanguessugas com bacilos a. a. r. A pele da lesão foi lavada cuidadosamente e as três sanguessugas aí se alimentaram durante 10 minutos. Retiradas, uma deles foi sacrificada e examinada imediatamente: na cabeça e tronco foram encontrados inumeraveis bacilos, muitos dos quais sob a disposição de globias. Não há dúvida, diz o autor, de que uma sanguessuga que pica um leproso, ao nível dum leproma, absorve quantidade consideravel de bacilos de HANSEN. Cinco dias após foi sacrificada outra sanguessuga, e os esfregaços do sangue da secção do meio do seu corpo revelaram tambem numerosos bacilos a. a. r. No 7.º dia foi sacrificada a última sanguessuga, cujos exames foram negativos.

Numa segunda experiência, com 14 sanguessugas, aplicadas num leproso, apenas cinco deram exames positivos. Outras sanguessugas infectadas foram conservadas em tubos com soro fisiologico e este liquido foi examinado após centrifugação, dias seguidos, ficando provado que após o 10.º dia a eliminação dos bacilos pelas fezes vai crescendo. Um exemplar, que durou 43 dias, eliminou sempre bacilos até esse período. Experiência idêntica feita com sanguesugas não alimentadas em leprosos não revelou bacilos no sedimento da centrifugação.

Diz o autor que os bacilos eliminados pelas fezes parecem normais e conservam a sua ácido-resistência, assemelhando-se aos bacilos de material colhido em leproso. Sobre a pele epilada dum *Cynocéphalus* (grande macaco africano), o autor aplicou sanguessugas infectadas em leprosos, que produziram nela a ferida triangular já descrita atrás. Biopsias dessas feridas foram negativas à baciloscopia, estranhando ele que uma sanguessuga muito infectada não transmitisse mecanicamente o bacilo. Parece que ele só fez uma experiência, cujo resultado negativo nada prova.

Por fim o autor levou dois leprosos tuberculosos a uma lagoa, onde os fez parmanecer apenas cinco minutos, tempo que foi bastante para sairem com

41 sanguessugas, das quais duas deram resultado positivo, ou sejam 4,8 %, em cinco minutos. Finalmente, o autor conclue que havendo na região muitos leprosos e sanguessugas, é provavel que estas tenham um papel na transmissão da lepra; que a sanguessuga pode agir como simples traumatisante, contribuindo para a dispersão dos bacilos pelas feridas que produz, contaminando as águas de charcos onde pessoas sadias vão se banhar; pode ainda alimentar-se num leproso e depois num indivíduo sadio e termina dizendo que por meio dos hirudíneos se pode obter bastante sangue de leprosos, com muitos bacilos, material esse adequado para quaisquer estudos.

Fig. 20 — Três doentes lepromatosos dentro da lagoa do Rio do Peixe, a 1 km da Colônia Santa Fé (Minas), se deixando parasitar por sanguesugas. Á direita, de gorro, o Dr. J. Mariano, diretor da Colônia.
Foto Dr. Souza-Araújo, 26/3/1943.

*Experiências pessoais*

Em fins de 1942, por sugestão dum cliente leproso, fiz-lhe duas tentativas infrutiferas de parasitismo com duas sanguessugas que o Sr. R. Honorio teve a bondade de me fornecer. Numa terceira vez, derramando leite sobre a pele do paciente, aí a sanguessuga o sugou, mas não foi examinada.

Ao chegar à Colônia Santa Fé o Dr. José Mariano cientificou-me que havia lagoas com sanguessugas nas margens do Rio do Peixe, pouco distante do leprosario. Na manhã de 26 de março o Dr. Mariano e eu levámos até à lagoa da margem direita daquele rio, pouco abaixo da ponte da ro-

dovia Belo Horizonte-São Paulo, os seguintes doentes: Gabriel P., preto, de 22 anos; F. Sebastião, pardo de 31 anos; Otávio L. S., preto de 54 anos e J. Ivo, preto de 40 anos, *todos casos* L3. No primeiro dia três deles penetraram no charco (Foto 20) donde sairam com algumas sanguessugas nas pernas, as quais os sugaram durante 40 minutos, que foi o tempo gasto no regresso ao leprosário, onde as retiramos deles e as colocamos em frascos de boca larga, com um pouco de água de torneira e umas folhas verdes (de mandioca). No dia seguinte aqueles quatro doentes voltaram à lagoa, com permissão do diretor, fazer nova "caçada". Ao todo obtivemos 30 sanguessugas, grandes e pequenas. Notei que após o arrancamento delas, o sangue ficava escorrendo da péle por algum tempo. Não tive a lembrança de examinar o tipo de feridas produzidas na pele. Nenhum doente se queixou de dor no começo, durante ou depois da mordedura da sanguessuga. Mergulhei algumas delas em soluto a 10 % de soda cáustica e depois de bem lavadas as triturei e semeei o sangue obtido em LOEWENSTEIN. Conservei a maioria delas nos frascos com água, a qual se mostrou sanguinolenta no dia seguinte, cuja cor tornou-se mais intensa com o passar dos dias. A 31 de março remeti para Manguinhos, pelo Sr. J. PINTO, três frascos com 20 e tantas sanguessugas de Otávio, Sabastião e Gabriel. O Dr. H. LINHARES entregou, a 1-4 algumas delas ao Prof. LAURO TRAVASSOS, para determinação e eu lhe mandei outro lote de exemplares normais.

A meu pedido o Dr. LINHARES examinou parte desse material, fornecendo-me o seguinte resultado: Sanguessugas de Otávio — três esfregaços, dos quais dois positivos: bacilos a. a. r. isolados e alguns feixes; Sebastião — no sedimento de centrifugado do liquido sanguinolento do frasco: bacilos acidófilos e no sangue do verme: bacilos pauci ácido-álcool resistentes; Gabriel — centrifugado da água do frasco positivo — raros bacilos a. a. r., assim como no sangue do verme. O Dr. LINHARES fez ainda semeaduras do sangue de algumas sanguessugas, sem prévio tratamento por um dos métodos aconselhaveis (PETROFF ou LOEWENSTEIN), contaminando-se logo quasi todos os tubos. Das semeaduras que fiz em Santa Fé existem ainda alguns tubos estereis, em observação.

Os esfregaços das sanguessugas de J. Ivo, Otávio e Gabriel, que examinei, revelaram raros bacilos a. a. r. E' conveniente referir que o sangue obtido das sanguessugas é tão viscoso que dificilmente se consegue um esfregaço satisfatório. Mas, à vista dos resultados do Congo Belga, obtidos pelo Dr. VAN BREUSEGHEM, julgo conveniente repetir-se esta pesquisa em Santa Fé, em maior escala e com melhor técnica. Ficou em suspenso, tambem, até que o Prof. TRAVASSOS disponha de tempo, a determinação das sanguessugas de Santa Fé, que ele supõe pertencerem a várias espécies.

Von Ihering (24) diz que as sanguessugas são vermes anelidos compreendendo toda a Ordem dos *Hirudíneos*, que se caracterizam pelo "corpo achatado, sem cerdas, com segmentação externa representada por numerosos aneis; acha-se provido de ventosas tanto na boca como na extremidade posterior", e que se locomovem graças às ventosas. Existem duas famílias: *Gnathobdelliidae*, cuja boca é provida de três lâminas maxilares, serrilhadas nas bordas, com as quais fez o verme incisões na pele da vítima, para poder sugar sangue, e *Glossosiphoniidae*, espécies providas de tromba retractil. Informa ainda Von Ihering que as espécies de sanguessugas hematófagas (há muitas não hematófagas) existentes nas lagoas e charcos dos Estados do Sul do Brasil, onde sugam o homem e outros animais vertebrados, pertencem ao gênero *Haementeria*. Provavelmente as espécies de Santa Fé entram nesse gênero.

### V — PEDICULÍDEOS

Em 1901 P. R. Joly (25) incriminou o *Phthirius pubis* ou *Pediculus pubis* (Linn. 1758), Leach, 1815, como possivel veículador da lepra, durante as relações sexuais, entre os habitantes da ilha de Madagascar. Em relatório especial apresentado ao Ministério da Marinha da França ele se exprimiu como segue, sobre o assunto:

> "...de même que presque tous les lépreux de Norvège ont la gale, de même à peu près tous les Malgaches portent des *Phthirius pubis*..."
> "...la lépre est trés répandue sur la côte nord-ouest de Madagascar,...
> "...Elle paraît se propager surtout: directement, par le coït; indirectement, soit par les *Phthirius pubis* (transmission active), soit, plus généralement, par les mouches allant ensemencer les muqueuses et les plais (transmission passive)."

Em 1912 McCoy e Clegg (26) examinando, em S. Francisco da Califórnia, esfregaços de dois piolhos (*Pediculus capitis*) capturados na cabeça dum caso avançado de lepra nodular encontraram muitos bacilos a. a. resistentes "indistinguiveis do bacilo da lepra pela sua morfologia, agrupamento e propriedades tinctoriais". Esse enfermo tinha lepromas na fronte e provavalmente infiltração lepromatosa no couro cabeludo. Os exames de piolhos de vários outros doentes de lepra lhes deram resultados negativos.

No dia 26-3-43, o Dr. José Mariano descobriu entre os leprosos hospitalizados na Colônia Santa Fé um caso L3-N2 (João Vicente, b. 36 anos), cuja fotografia ilustra este trabalho (Foto 21), intensamente parasitado por

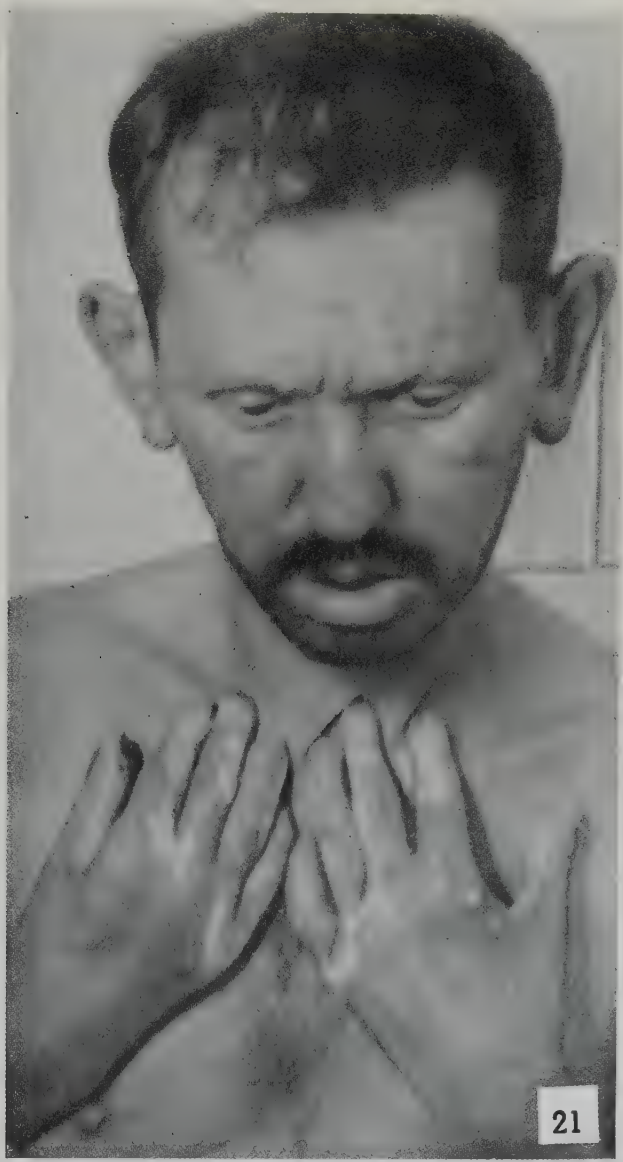



Fig. 21 — O enfermo João Vicente, de 36 anos de idade, caso L3-N2, de quem o Dr. Mariano obteve 10 exemplares de *Phthirius pubis*, dos quais um triturado sobre lâmina revelou, entre bacterias cianófilas, um grupo de 9 ou 10 bacilos a.a.r. indistinguiveis do de Hansen.
Foto de J. Pinto.

"chatos". (*Phthirius pubis*) capturando vários exemplares que me pediu para examinar. Entre 10 parasitos, vivos, encontrei um, morto, com o abdome inchado e escuro. Dissequei este parasito sobre lâmina que, corada pelo

Ziehl-Neelsen, me revelou alguns bacilos a. a. r. suspeitos de serem o da lepra. Mostrei o campo ao Dr. Mariano e trouxe a lâmina para re-examinar no Rio, o que fiz, encontrando um campo com uns nove ou 10 elementos a. a. r. no meio duma massa de germes cianófilos, abundantes em todo o *frottis*.

O triturado dos demais exemplares, que amanheceram mortos, foi semeado em Loewenstein, tendo o seu esfregaço sido negativo. Esta pesquisa merece ser repetida sempre que haja oportunidade. Esse parasito sugando em pele com lesão lepromatosa poderá disseminar os bacilos pelas feridas que costuma fazer com as suas agudas e penetrantes unhas, alem de fazê-lo pelas fezes, por analogias com outros ectoparasitos, e talvez tambem pela picada.

### VI — cimicídeos

Foi o Dr. Goodhue, famoso diretor, durante um quarto de século, do Leprosário da Ilha de Molokay (Hawaii), quem em 1906, encontrou pela primeira vez bacilos a. a. r. em percevejos (*Cimex lectularius*, Linneo, 1758). Sandes (1911), (27) na África do Sul examinando 75 percevejos que haviam sugado leprosos encontrou bacilos a. a. r. em 20 (26,6 %), os quais perduraram no hemíptero até 16 dias.

Nos esfregaços de macerato da cabeça e proboscida desse parasito encontrou bacilos até o 5.º dia após a picada. Com Goodhue, Sandes conclue que o percevejo, pelo seu hábito de permanecer na cama ou nas roupas da cama, podendo sugar doentes e sãos repetidas vezes, é um "*very important agent in the transmission of leprosy*". Leboeuf (1912) fez 44 percevejos sugarem em leprosos, na Nova Caledônia e depois os examinando encontrou bacilos a. a. r. em 5 (11 %). Para esse autor o percevejo picando lepromas pode absorver bacilos mais frequentemente que a *Stegomyia*. Não crê, entretanto, que o bacilo se multiplique no seu organismo, não exercendo o percevejo, portanto, papel algum na propagação da lepra. De 1911 a 1917, desde Ehlers e colaboradores até De Buen, foram examinados 302 percevejos alimentados em leprosos, com 30 resultados positivos (9,9 %). De 566 exemplares colhidos em camas de leprosos apenas 5 (0,9 %) continham bacilos.

#### *Experiência pessoal*

Em dezembro de 1942 o Dr. Vandyck del Favero, leprólogo recenseador do município de São Gotardo (Minas), mandou-me alguns percevejos capturados em camas de leprosos, para exame bacterioscópico, que fiz, com resultado negativo. A 25 de fevereiro de 1943, recebi de Bambuí (Minas) quatro percevejos capturados na casa da leprosa Olga C. de O.,

de 16 anos, residente no bairro Ponte Alta, cidade de Bambuí, pelo Dr. J. Baêta, leprólogo recenseador dessa região, que gentilmente m'os encaminhou para exame. Triturei um deles sobre lâmina e a sua baciloscopia, pelo método rotineiro, foi negativo. Os três restantes mergulhei em soluto a 10% de soda caustica (½ h) e depois de duas lavagens em água destilada esteril triturei-os e semeei o triturado em meio de Loewenstein e caldo glicerinado, que continuam ainda em observação até a próxima semana. O esfregaço desse triturado tambem foi negativo à baciloscopia.

No dia 20 de abril recebi de Tiros (Minas), com o carimbo postal de 15/4, três percevejos remetidos pelo mesmo colega Dr. Vandyck, com a nota "de doente bacilifero". Chegaram vivos e foram tratados pelo método habitual (Petroff), triturados e semeados em meios apropriados para germes ácido-resistentes. Os esfregaços desse triturado foram negativos. Convem insistir neste estudo.

## CONCLUSÕES

1 — A infecção experimental de carrapatos em leprosos tornou-se um facto rotineiro, dependendo o seu sucesso de dois fatores: *a*) ser o carrapato do sexo feminino; *b*) ser o doente lepromatoso.

2 — Em material de várias procedências tem sido verificada a infecção espontânea de carrapatos em leprosos.

3 — Foi verificada a infecção espontânea e experimental de duas espécies de Triatomídeos (*T. infestans* e *P. megistus*) em leprosos.

4 — Jeanselme (28) afirmou em 1912 e insistiu em 1934 (29) que a bacilemia na lepra só existe durante os acessos febris. Lutz (19 e 30) admite que o bacilo da lepra ou uma forma filtrável dele se encontra no sangue dos doentes durante os acessos febris, quando os mosquitos devem se infectar.

Está provado, há muito tempo, que o bacilo de Hansen existe no sangue dos leprosos ativos em qualquer momento e o autor conseguiu infectar vários hematófagos em leprosos com a temperatura normal.

5 — Em condições naturais o autor verificou que três espécies de *Psorophora* e uma de *Aedes* sugam de leprosos afebris abundantes bacilos, inclusive globias e massas.

6 — Tambem verificou o autor a facilidade com que os hirudíneos sugam os leprosos e eliminam os bacilos ingeridos pelas fezes.

7 — Num dentre vários exemplares de *Phthirius pubis* retirado dum leproso L3 o autor encontrou alguns bacilos ácido-álcool resistentes.

8 — O exame de vários exemplares de *Cimex lectularius* capturados em camas de leprosos foi negativo para bacilos da lepra.

## CONCLUSIONS

*Natural and experimental infection of various hematophagus in lepers*

1 — The experimental infection of ticks in lepers became a routine, its success depends on two factores: *a*) the tick must be female, and *b*) the patient lepromatous.

2 — The A. verified in ticks from various origins (of Brazil) the natural infection in lepers.

3 — The A. verified the expontaneous and experimental infection of two kinds of Triatomas (*T. infestans* and *P. megistus*) in lepers.

4 — Classically is considered that lepers have bacillemia only during febril reaction but the A. succeded in infecting in afebrile lepers various kinds of hematophagus.

5 — In the nature, near a river, the A. collected various mosquitoes after being fed in active cases of leprosy. Three species of *Psorophora* and one *Aedes* were strongly infected with innumerous bacilli.

6 — The A. verified also the natural infection of Hirudíneos in lepers.

7 — In a *Phthirius pubis* amongst various found in a leper the A. verified a few lepra bacilli.

8 — In the examination of various *Cimex lectularius*, collected in beds of lepers, the A. failled to find bacilli.

## BIBLIOGRAFIA

1 — Souza-Araujo, H. C. de e Miranda, Ruy Noronha.

1942. Poderá o carrapato transmitir a lepra? 3.ª Nota. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, T. 37, F 3, pp 391-425.

2 — Souza-Araujo, H. C. de —

1941. Poderá o carrapato transmitir a lepra? (1.º artigo) Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, T. 36, F. 4 : 577-585.

3 — Lahille, F.

1905. Contribution à l'E'tude des Ixodidés de la Republique Argentine. Imprimerie du Bureau Météorologique. B. Aires.

4 — Pinto, Cesar

1938. Zooparasitos de interesse médico e veterinário.

5 — Gelormini, Nicolas

1940. Bionomia del Bcophilus microplus. Monografía, Buenos Aires.

6 — Macleod, J. M. H.

1903. Pratical Handbook of the pathology of the Skin, págs. 252 e 277.

7 — Sigmund, Fr., Edition française par Louis Bounoure, Paris.

1912. Histologie physiologique de l'Homme et des Mammifères, pág. 12.

8 — Dockrell, Morgan

1905. An Atlas of Dermatology, London. Leprosy, plate XXIII.

9 — Arning, Edward.

1885. Report on Leprosy in Hawaii. November 14 th, 1885 (pág. 38). *In* Reign of his Majesty Kalakaua, 13th Year.
Report of the President of the Board of Health to the Legislative Assembly of 1886. on leprosy. Honolulu, 1886.

10 — Arning, Ed.

1890. Baumgartens Jahresbericht, Vol. 6, pág. 247. Cit. Leboeuf.

11 — Arning, Ed.

1891. Archiv f. Dermatologie und Syphilis, n. 1 Congress Berlin.

12 — Noc, F.

1903/4. Fonctionnement du laboratoire de bacteriologie de Nouméa (Nouvelle Calédonie) années 1901/02.
Annales d'Hygiène et médecine coloniales, 6 (3) : 477-490.

13 — Goodhue, W. J.

1907. Mosquitoes and their relation to leprosy.
Am. Med. N. S. (Oct. 1907) : 593. Citação de Vedder.

14 — Currie, Donald H.

1910. Mosquitoes in relation to the transmission of leprosy.
P. H. Bulletin, n. 39, Sept. 1910.

15 — Leboeuf, A.

1912. Recherches expérimentales sur la valeur du rôle que peuvent jouer certains insects hematophages dans la transmission de la lèpre.
Bull. Soc. Pathol. exot., T. 5 (1912), pags. 667-686.

16 — Noc, F.

1912. Remarque et observations sur le rôle des moustiques dans la propagation de la lèpre.
Bull. Soc. Pathol. exot., Tome 5, 1912, pág. 787.

17 — Mouritz, A. A. St. M.

1916. The Path of the Destroyer. A history of leprosy in the Hawaiian Islands. Honolulu, 1916, pág. 95.

18 — Vedder, Edward, B.

1928. A discussion of the etiology of leprosy, with especial reference to the possibility of the transference of leprosy by insects, and the experimental inoculation on three men.
Philipp. Jl. Sci., Vol. 37 (1928), n. 3, pág. 214/45.

19 — Lutz, Adolpho

1938. No control of leprosy without antimosquito campaign.
Congresso de Lepra do Cairo. Int. Jl. Leprosy, Vol. 6, pág. 439.

20 — Wade, H. W.

1938. A report on the Cairo Leprosy Congress.
Month. Bull. Philip. Health Service, 1938, págs. 22-41.

21 — Souza-Araujo, H. C. de

1941. Pesquisas leprológicas realizadas na Colônia de Itanhenga. Arquivos Mineiros de Leprologia, A. I., n. 4, out., pág. 283/88.

22 — Klingmueller, Viktor

1930. Die Lepra. Blutegel, pág. 238.

23 — Breuseghem, R. van

1937. Lèpre et Sangsues.
Annales Soc. Belge Méd. Trop., Vol. 17, n. 2, pág. 237/44.

24 — von Ihering, Rodolpho.

1940. Dicionário dos Animais do Brasil.
Sanguessuga, pág. 704/5.

25 — Joly, P. R.

1901. La lèpre dans le Nord-Ouest de Madagascar.
Archives de Parasitologie, T. 4 (1901), pág. 162/4.

26 — McCoy and Clegg

1912. A note on acid-fast bacilli in head lice (P. capitis).
U.S.P.H.S. Report 27 (6/9/1912), pág. 1.464.

27 — Sandes, T. Lindsay

1912. The Mode of Transmission of Leprosy.
lepra, Vol. 12, F. 2., pág. 65/9.

28 — Jeanselme, E.

1912. Lèpre *In* Vol. 18 Traité d'Hygiène de Chantemesse et Mosny.
Moustiques, pág. 6.

29 — Jeanselme, E.

1934. La Lèpre. Ed. G. Doin & Cie. Paris.
Moustiques, pág. 250.

30 — Lutz, Adolpho

1939. A Transmissão da lepra pelos mosquitos e a sua profilaxia. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, T. 34, pág. 475, Inglês 485.

# Triatomídeos da Guiana Holandesa. Redescrição de Panstrongylus lignarius (Walker, 1873) (*)

por

Herman Lent

(Com nove figuras no texto)

A fauna dos hemípteros hematófagos da família *Triatomidae* na Guiana Holandesa é bem reduzida e as referências até o momento existentes são pouco precisas.

A primeira indicação é dada em 1788, por Stoll ao referir as espécies *Triatoma rubrofasciata* e *Triatoma maculata* que chamou, respectivamente, de "La Punaise Mouche de Surinam" e "La Punaise Mouche bigarrée". A outra citação pertence a Stal, em 1859, ao referir *Panstrongylus geniculatus* como existente em Surinam. Depois, as citações são todas sob a rubrica geral de Guianas, enquanto Pinto, em 1925, refere *Rhodnius prolixus* no índice, mas no texto indicando a espécie nas Guianas.

Neiva & Lent, em 1936, dão somente a existência de *P. geniculatus* e em 1941 acrescentam *T. maculata* e *R. prolixus*.

As indicações exatas, entretanto, impõem que se considere como referidas, até o momento, naquele país as seguintes espécies :

*Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773).
*Triatoma maculata* (Erichson, 1848).
*Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811).

às quais acrescentamos outras duas, *Panstrongylus lignarius* (Walker, 1873) e *Rhodnius pictipes* Stal, 1872, que recebemos recentemente com uma pequena coleção de hemípteros gentilmente enviada pelo Dr. D. C. Geijskes, entomologista da "Agricultural Experiment Station", em Paramaribo (*R. pictipes* representado por um exemplar macho, capturado em Paramaribo, atraido pela luz, em 15-6-41, por Geijskes).

*Panstrongylus lignarius* é uma espécie muito pouco trabalhada e da qual não existem figuras publicadas, tendo sido referida até agora na Guiana Inglesa e no Norte do Brasil; alem disso, é espécie próxima de *Panstrongy-*

* Recebido para publicação a 29 de maio e dado à publicidade em junho de 1943.

*lus humeralis* (USINGER, 1939) da qual possuimos para exame o alótipo fêmea. Isto nos levou a publicar o presente estudo, redescrevendo aquela espécie, caracterisando as principais diferenças morfológicas que esta última possue e adicionando figuras elucidativas e a bibliografia existente.

## **Panstrongylus lignarius** (WALKER, 1873) PINTO, 1931

(Figs. 1-6)

*Conorhinus lignarius* WALKER, 1873, pág. 17.
*Eratyrus lignarius* LETHIERRY & SEVERIN, 1896, pág. 117.
*Conorrhinus lignarius* CHAMPION, 1899, págs. 206, 210.
*Lamus lignarius* DISTANT, 1902, págs. 191, 192.
*Triatoma lignarius* NEIVA, 1911, pág. 461.
*Triatoma lignaria* NEIVA, 1914, págs. 7, 46-47.
*Triatoma lignaria* DEL PONTE, 1921, págs. 161, 177.
*Triatoma lignaria* HUSSEY, 1922, pág. 116.
*Triatoma lignaria* PINTO, 1925, págs. 67, 99.
*Triatoma lignaria* DEL PONTE, 1930, págs. 878-880, 917.
*Panstrongylus lignarius* PINTO, 1931, págs. 51, 116.
*Panstrongylus lignarius* HASE, 1932, pág. 599.
*Panstrongylus lignarius* NEIVA & LENT, 1936, págs. 172, 185.
*Mestor lignarius* USINGER, 1939, págs. 34, 39-40.
*Panstrongylus lignarius* C. LIMA, 1940, pág. 196.
*Panstrongylus lignarius* LENT & PIFANO, 1940, pág. 631.
*Panstrongylus lignarius* NEIVA & LENT, 1941, págs. 79, 89, 91.
*Panstrongylus lignarius* RODRIGUES & MELLO, 1942, pág. 78.

Comprimento — ♀ 30 mm; ♂ 25 mm.

Largura — (ao nivel do pronoto) ♀ 8mm, ♂ 7mm; (ao nivel do abdome) ♀ 11 mm, ♂ 8 mm.

Observado pela face superior, o inseto tem cor geral castanho muito claro desde o torax até o último segmento abdominal, notando-se manchas negras esparsas, perfeitamente visiveis a olho nú, que formam desenhos caracteristicos. A cabeça tem cor nitidamente castanha, as patas e a parte inferior do inseto possuem colorido castanho ferrugíneo. Todo o corpo é fracamente revestido de pêlos muito curtos, que só se tornam mais aparentes nas patas e nas antenas. E' muito nitida a diferença de colorido: enquanto o dorso é castanho claro, a face ventral é nitidamente enegrecida, ferrugínea, da mesma cor que o rostro.

Cabeça de colorido castanho, curta, menor do que o pronoto na linha mediana, esparsamente revestida de pequenos pêlos dourados, praticamente inaparentes; região anteocular mais ou menos tão comprida quanto a post-ocular mais a inter-ocular. *Tylus* bem acentuado, elevado, separado da fronte por uma rugosidade transversal, alargado na base, onde, de cada lado, notam-se dois tubérculos parafrontais bem nitidos; *jugae* ao lado do *tylus*, em plano inferior a ele, afilando para diante onde atinge o nivel do ápice do *tylus*. Fronte larga, com uma linha mediana de pequeninas rugas transversais, que também se

encontram ao longo do *tylus* formando uma faixa de colorido um pouco mais escuro. Região post-ocular curta e larga. Olhos salientes, bem afastados superiormente, quase unidos na face inferior da cabeça, cada olho tendo de largura cerca de 2/3 da distância inter-ocular. Ocelos grandes, muito aparentes, salientes, colocados próximo dos olhos e atrás deles, mas implantados mais próximo da linha mediana em tubérculos também salientes que nascem ao nivel da margem posterior da cabeça, dirigem-se para diante e obliquamente para fora. Tubérculos anteníferos implantados logo adiante dos olhos, abaixo e ao lado dos tubérculos parafrontais, de colorido castanho como a cabeça, porem mais claro que o do primeiro artículo antenal, quase sem cerdas e sem a saliência apical externa. Antenas pouco pilosas, longas; o primeiro artículo é de colorido castanho escuro quase preto, possue poucos pêlos pretos, é grosso, mas a sua porção basal é mais delgada e atinge o ápice da cabeça; segundo artículo tambem castanho escuro, mais delgado do que o primeiro, porem com maior número de cerdas pretas alongadas, alem de pequenos pêlos dourados, possue quase três vezes o comprimento do primeiro; terceiro artículo mais claro (pardacento) e bem mais delgado do que os anteriores, um pouco menos comprido do que o segundo e provido de pêlos dourados abundantes e cerdas pretas maiores aguçadas e esparsas ; quarto artículo com o colorido e a distribuição de pêlos igual a do terceiro e com 2/3 do comprimento deste. Rostro reto, forte, castanho escuro, em repouso sob a face inferior da cabeça, que tambem tem colorido castanho escuro; o primeiro artículo rostral, revestido de pêlos dourados muito curtos, atinge o nivel da inserção do primeiro artículo antenal nos tubérculos anteníferos e é quase todo sulcado superiormente para receber o labro, que é bem mais curto que o sulco; segundo artículo cerca de 1 ½ vez maior do que o primeiro, tambem revestido dos mesmos curtos pêlos dourados; terceiro artículo curto, com cerca da metade do comprimento do primeiro, possuindo cerdas douradas esparsas mais longas e repousando no sulco proesternal que fica situado logo acima da inserção do primeiro par de patas.

Pescoço castanho escuro, com duas faixas mais claras lateralmente.

Torax grande, principalmente representado por um pronoto e um escutelo bem desenvolvidos e pelas regiões inferiores, e laterais, pro-, meso- e metaesterno, pro-, meso- e metapleura, com os escleritos delimitados.

Pronoto forte, de colorido castanho claro, nitidamente dividido nos dois lóbulos habituais por um sulco transversal pouco acentuado. O lóbulo anterior, que tem ¼ do comprimento total do pronoto, é provido de uma série de tubérculos e protuberâncias que o tornam muito típico. E' dividido medianamente por um sulco longitudinal que se escava em uma fosseta ao nivel do bordo posterior do lóbulo anterior, ao lado do qual se situam duas bossas, de cada uma das quais se eleva um forte tubérculo de ápice arredondado e amarelado; estes tubérculos teem sua base contornada anteriormente por uma mancha pardo-escura e posteriormente são prolongados por uma faixa amarelada e elevada cuja continuação constitue as carenas longitudinais; estão situados mais ou menos no meio do lóbulo. Na metade posterior deste lóbulo anterior estão situados quatro outros tubérculos de colorido amarelado, menos proeminentes : dois deles para trás e para fora das bossas acima descritas, reniformes, e os dois outros lateralmente, sobre os bordos laterais. Um outro tubérculo menos acentuado, em forma de barra, existe no bordo lateral do lóbulo anterior para diante deste último referido. De cada lado do colarinho, que não é muito pronunciado, existe tambem um tubérculo de ápice amarelado e base preta, pontudo e grande, dirigido cada qual para o lado do corpo, formando uma curva suave de concavidade anterior, de modo que o ápice se dirige para a linha mediana : são os ângulos anteriores do pronoto. Os bordos laterais do lóbulo anterior são percorridos por uma faixa preta que se prolonga até a metade do lóbulo posterior e o contorno do bordo aí é rugoso. O lóbulo anterior do pronoto é

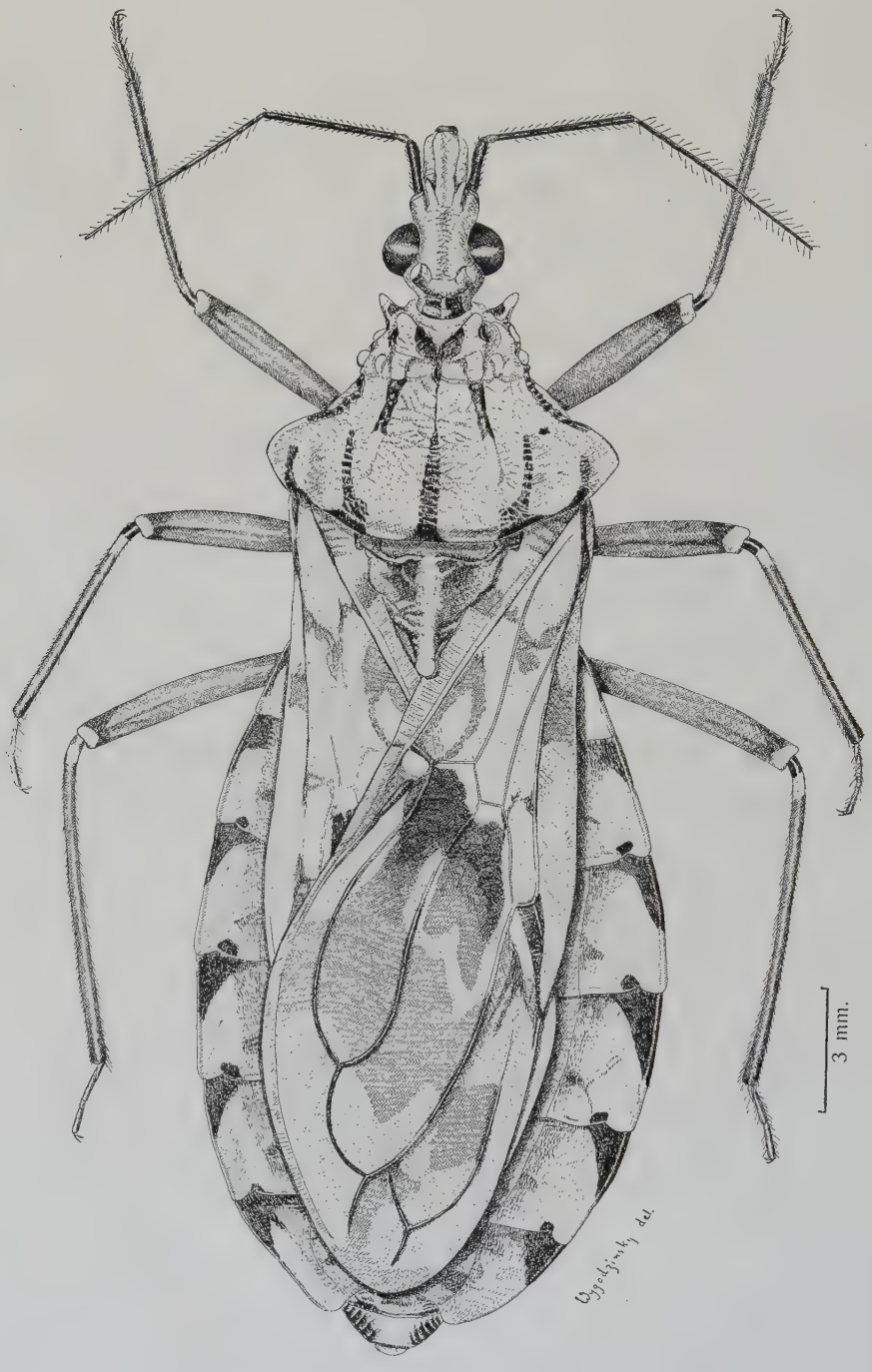



Fig. 1 — *Panstrongylus lignarius* (WALKER, 1873), ♀, total.

provido de pequenos pêlos dourados esparsos e zonas glabras distribuidas como na figura. O lóbulo posterior tambem possue raros pêlos dourados, mas tem o tegmento com pontuações e pequenas saliências e rugosidades. As duas carenas que nascem da base das bossas do lóbulo anterior terminam a pouca distância do bordo posterior do pronoto e são

Fig. 2 — *Panstrongylus lignarius* (WALKER, 1873), ♀.

pretas na metade de seu comprimento a partir do sulco transversal que separa os dois lóbulos; cinco outras faixas pretas existem no lóbulo posterior do pronoto, uma longitudinal mediana que vem do lóbulo anterior fina para se alargar posteriormente, e duas outras de cada lado, situadas a igual distância uma da outra, do meio do lóbulo posterior para trás,

mais dilatadas sobre os bordos, duas para fora das carenas e perto delas e duas sobre a saliência existente perto dos ângulos posteriores do pronoto, que são levemente elevados e refletidos.

Escutelo triangular com ápice arredondado e levantado, de cor escura e com uma faixa mediana longitudinal amarelada, fracamente revestido de pêlos curtos; anteriormente, o escutelo possue, de cada lado, uma saliência de colorido castanho claro; o ápice é amarelado, globuloso, ligeiramente voltado para cima; na base e de cada lado existem duas pequenas saliências mamiliformes, de onde parte uma crista transversal para o centro do escutelo que aí se deprime (depressão cordiforme).

Propleuras de colorido ocráceo medianamente, dos lados sendo de colorido negro; na parte póstero-lateral do proesterno a coloração ocrácea forma uma mancha ocrácea separando a região escura de cada lado. Meso- e metapleuras castanho claro, com os esclerítos delimitados por saliências negras. Na metapleura, quase ao nivel do início do abdome, existe, bem visivel, o segundo estigma torácico. No bordo posterior do proesterno e da propleura limitando com o mesoesterno e mesopleura, porem próximo à implantação do primeiro par de coxas, existem numerosas cerdas douradas reunidas em tufo. O proesterno possue o sulco estridulatório escavado em forma de V, delimitado anteriormente por pequena elevação lateral. Na porção mediana do mesoesterno existe uma saliência transversal bem acentuada, glabra, de colorido negro brilhante e em forma de lingueta. O metaesterno é quadrangular, negro brilhante, com os quatro ângulos formando tubérculos. O revestimento piloso destes segmentos é praticamente inexistente.

Hemi-élitros cobrindo quase todo o abdome, de colorido idêntico ao do pronoto, isto é, castanho claro ou ocráceo com diversas manchas castanhas quer no cório, quer na membrana, cuja disposição é representada na figura. A membrana é cheia de pequenas ondulações irregulares, tem a base castanha escura, sendo muito nítidas as nervuras, que apresentam colorido castanho escuro e são ligeiramente mais claras no 1/3 basal.

Patas de colorido geral castanho-ferrugíneo, tendo, porem, os trocânteres e a base dos fêmures e das tíbias de coloração ocrácea. Primeiro par com dois espinhos bem salientes nos fêmures, paralelos transversalmente; o mesmo aspecto se encontra no segundo par, enquanto no terceiro par existe um pequeno tubérculo com uma cerda curta no ápice. Tíbias dos primeiro e segundo pares praticamente do mesmo comprimento; a tíbia do terceiro par é a mais longa; todas são de colorido castanho escuro, ferrugíneo, porem com a base negra seguida imediatamente de um estreito anel ocráceo e o ápice tambem negro, e são mais pilosas do que os fêmures, principalmente na face interna, as do primeiro e segundo pares possuindo fossetas esponjosas. Tarsos com três artículos, de colorido castanho escuro, com o terceiro artículo mais longo, onde se insere o par de unhas. O revestimento piloso das patas não é muito acentuado, só se tornando mais intenso nas tíbias e tarsos.

Abdome com conexivo largo, de cor ocrácea e manchas escuras mais ou menos triangulares dispostas no ângulo-externo de cada segmento. No bordo posterior dos terceiro, quarto, quinto e sexto segmentos do conexivo existe uma reentrância como se fosse um corte, que se superpõe à mancha triangular, e acima da qual se assesta pequena mancha escura. Visto pela face inferior, os segmentos do conexivo possuem uma mancha preta com o bordo posterior de concavidade posterior, situada no 1/3 anterior de cada segmento. Os segmentos abdominais são castanho escuros no centro e avermelhados (ferrugíneos) lateralmente; os bordos laterais são enegrecidos. Orifícios estigmáticos muito nítidos, bem arredondados, salientes e localizados junto da margem, no meio de cada segmento, de coloração ocrácea, formando contraste com o colorido geral. Mais na linha mediana, o abdome possue esparsos pêlos curtos e dourados e, aí, é levemente achatado.

Ovipositor saliente, com uma larga mancha longitudinal mais pálida do que a coloração do conexivo, e quase sem pilosidade. Genitália do macho arredondada e, tambem, fracamente pilosa.

*Distribuição geográfica* — Guiana Inglesa, Brasil e Guiana Holandesa. Os exemplares conhecidos são em número de 4 : o tipo é macho e provem da Guiana Inglesa (segundo informação de CHINA o tipo é do sexo feminino, mas a descrição de WALKER se refere a macho); outra fêmea da Guiana Inglesa, Esequibo River, Moraballi Creek, 20-10-929, Oxford University Expedition, det. por CHINA, existe no Museu Britânico. Em nosso poder existem dois exemplares, que serviram de base à redescrição da espécie, com as seguintes indicações : ♀ Piratuba, Abaeté, Estado do Pará, Brasil, SEGE coll.; e ♂ Paramaribo. Charlesburg, Guiana Holandesa, 9-4-941, GEIJSKES coll. et leg.

Fig. 3 — *Panstrongylus lignarius* (WALKER, 1873), ♀, cabeça de perfil.

Esta espécie foi descrita em 1873 por WALKER sob o nome de *Conorhinus lignarius* de um exemplar macho proveniente da Guiana Inglesa e ofertado por Sir R. SCHOMBURGK ao Museu Britânico. Logo em 1896, LETHIERRY & SEVERIN a catalogam no gênero *Eratyrus* sem qualquer explicação, naturalmente baseados no que diz WALKER em sua descrição original.

> "This species has some affinity to Eratyrus in the rudimentary spines of the fore lobe of the prothorax"

o que é corrigido em 1899 por CHAMPION que a considerava melhor colocada entre as espécies do gênero *Lamus* apesar de a referir ainda em *Conorrhinus*

A opinião de CHAMPION foi aproveitada, em 1902, por DISTANT, até que NEIVA, em 1911, e depois em 1914, transfere-a para o gênero *Triatoma* tendo examinado o exemplar tipo no Museu Britânico no qual verificou

> "os ângulos posteriores do torax muito acentuados" e "as manchas ocraceas do conexivo mais largas do que as negras".

Em 1925, PINTO, apesar de referir a espécie no gênero *Triatoma*, acha que deveria ser incluida entre os *Eratyrus* pelo fato de possuir

> "espinhos na parte anterior do pronoto".

Em 1930, DEL PONTE publica os resultados de suas verificações no exemplar tipo existente no Museu Britânico e, com estas informações, PINTO em 1931, poude finalmente incluir a espécie em *Panstrongylus*, onde permanece.

Em 1939, USINGER, chama-a de *Mestor lignarius*, fazendo reviver o gênero de KIRKALDY indicado para substituir *Lamus* que se achava preocupado.

Até esta data, o único exemplar conhecido era o tipo, da Guiana Inglesa. Em 1940, entretanto, COSTA LIMA refere o achado da espécie em Piratuba, Estado do Pará, Brasil; o exemplar ♀ determinado por C. LIMA serviu para a redescrição que publicamos.

Apezar de considerar *Mestor* como subgênero de *Panstrongylus*, COSTA LIMA denomina a espécie de *P. lignarius*. LENT & PIFANO (1940) dão em quadro comparativo algumas informações sobre caracteres da espécie, a-fim-de reforçar seus argumentos no sentido de estabelecer o gênero *Mestor* como sinônimo de *Panstrongylus*.

**Panstrongylus humeralis** (USINGER, 1939)

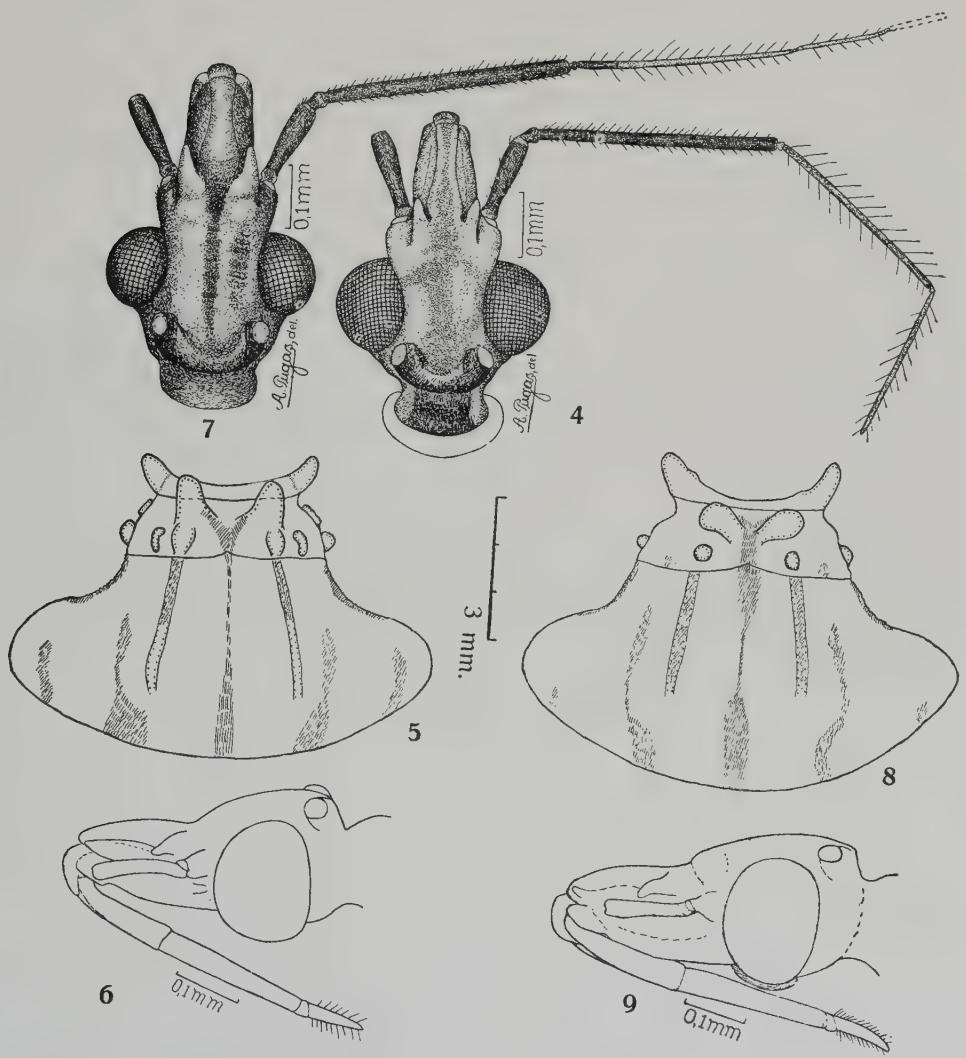
(Figs. 7-9)

*Mestor humeralis* USINGER, 1939, págs. 38-40.
*Panstrongylus humeralis* LENT & PIFANO, 1940, pág. 631.
*Panstrongylus humeralis* NEIVA & LENT, 1941, págs. 78, 92.

Em 1939, USINGER descreveu uma nova espécie, sob a denominação de *Mestor humeralis*, que se apresentava com caracteres extremamente parecidos aos de *P. lignarius;* o próprio autor acentua este fato ao pedir a CHINA que comparasse o holótipo ♂ de sua espécie com o da espécie de WALKER. O conhecido hemipterologista inglês escreveu, então, o seguinte:

> "At first sight your specimen appears to be identical with the unique type. Closer examination reveals the fact that it differs considerably in the structure and coloration of the pronotum and scutellum, particularly in the shape of the tubercles of the anterior lobe of the pronotum. The scutellum is also dark with a yellow median stripe in *lignarius* instead of yellow with a black median stripe as in your specimen. I have just found in our accessions another female spe-

cimen of *Mestor lignarius* collected in British Guiana in 1929. There is some slight variation in the pronotal tubercles and coloration but in the main they are of the same pattern as in the type and quite distinct from your Panama specimen."




*Panstrongylus lignarius* (WALKER, 1873), ♀ — Fig. 4: Cabeça vista dorsal; fig. 5: pronoto; fig. 6: cabeça de perfil. *Panstrongylus humeralis* (USINGER, 1939) ♀ — Fig. 7: Cabeça, vista dorsal; fig. 8: pronoto; fig. 9: cabeça, de perfil.

Por gentileza de USINGER pudemos estudar o alótipo ♀ desta espécie, rotulado Barro Colorado, C. Z., II/27, 1933, que pudemos comparar com nossos exemplares de *P. lignarius* e constatar as seguintes diferenças :

Observado pela face superior, num exame macroscópico, o inseto é extremamente parecido com *P. lignarius* e tem colorido idêntico ao desta espécie. O primeiro exame microscópico, com fraco aumento, logo revela que o revestimento piloso é muito mais intenso do que na espécie referida.

As diferenças principais residem, entretanto, no pronoto e no escutelo, a cabeça tambem possuindo certa distinção.

*Pronoto* — Lóbulo anterior com um par de saliências arredondadas anteriores ao lado do sulco mediano e outro par, menos elevado, atrás dos anteriores, ao nivel do bordo posterior do lóbulo, de onde nascem as carenas longitudinais; e, ainda, um tubérculo no bordo lateral de cada lado, situado ao nivel de uma linha que passasse, transversalmente, entre os dois pares de tubérculos acima referidos (fig. 8). Não existem os tubérculos situados ao nivel do bordo posterior do lóbulo mais para fora do início das carenas, que se vê em *lignarius* (fig. 5), e tambem não existe uma segunda saliência em barra do bordo lateral adiante do tubérculo que aí foi referido. Em compensação, os ângulos anteriores do pronoto são mais pronunciados e lamelados em *P. humeralis* do que em *P. lignarius*.

*Escutelo* — As principais diferenças residem numa inversão do colorido: enquanto em *P. lignarius* o escutelo possue uma faixa mediana longitudinal amarela contrastando com os lados pardo-escuros, em *P. humeralis* esta faixa central é escura e os lados amarelos; tambem a pilosidade é mais intensa nesta espécie, cuja escavação central cordiforme do escutelo é tambem mais pronunciada.

*Cabeça* — Um pouco mais alongada e com olhos menores em *P. humeralis* (fig. 7), que tambem possue tubérculos parafrontais mais alongados do que em *P. lignarius* (fig. 4).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHAMPION, G. C.

1899. Biologia Centrali-Americana. Insecta. Rhynchota. Hemiptera-Heteroptera, 2 : XVI + 416 págs., 22 ests. (*cf* pp. 206, 210).

DEL PONTE, E.,

1921. Contribución al estudio del gen. *Triatoma* Lap., *Rev. Inst. Bact. B. Aires*, 3 (1) : 133-196, láms. 8-15.

DEL PONTE, E.,

1930. Catálogo descriptivo de los géneros *Triatoma* Lap., *Rhodnius* Stal y *Eratyrus* Stal. *Rev. Inst. Bact. Dep. Nac. Hig. B. Aires*, 5 (8) : 855-937, figs. 1-25, láms. 41-53.

DISTANT, W. L.,

1902. Rhynchotal Notes. — XIV. Heteroptera : Families *Hydrometridae, Henicocephalidae,* and *Reduviidae* (part.). *Ann. Mag. Nat. Hist.,* 7, 10 (57) : 173-194.

HASE, A.,

1932. Beobachtungen an venezolanischen Triatoma-Arten, sowie zur allgemeinen Kenntnis der Familie der Triatomidae (Hemipt.-Heteropt.). *Z. Parasitenk.,* 4 (4) : 585-652, figs. 1-27, 1 map.

HUSSEY, R. F.,

1922. A bibliographical notice on the reduviid genus *Triatoma* (Hemip.). *Psyche,* 29 (3) : 109-123.

LENT, H. & PIFANO, F.,

1940. Sobre a identidade dos gêneros *Panstrongylus* Berg, 1879 e *Mestor* Kirkaldy, 1904. Redescrição de *Panstrongylus rufotuberculatus* encontrado, na Venezuela, naturalmente infestado pelo *Schizotrypanum cruzi. Rev. Ent., Rio de Janeiro,* 11 (3) : 629-639, figs. 1-2.

LETHIERRY, L. & SÉVERIN, G.,

1896. Catalogue général des Hémiptères, 3 : 275 pp., Berlin.

LIMA, A. C.,

1940. Insetos do Brasil. Hemípteros, 2 : 351 pp., 446 figs., Rio de Janeiro.

NEIVA, A.,

1911. Contribuição ao estudo dos hematófagos brasileiros e descrição de uma nova espécie de *Triatoma. Brasil Med.,* 25 (46) : 461-462.

NEIVA, A.,

1914. Revisão do gênero *Triatoma* Lap., These, 80 pp., Rio de Janeiro.

NEIVA, A. & LENT, H.,

1936. Notas e comentários sobre triatomídeos. Lista de espécies e sua distribuição geográfica. *Rev. Ent., Rio de Janeiro,* 6 (2) : 153-190.

NEIVA, A. & LENT, H.,

1941. Sinopse dos Triatomídeos. *Rev. Ent., Rio de Janeiro,* 12 (½) : 61-92, figs. 1-28.

PINTO, C.,

1925. Ensaio monográfico dos reduvídeos hematophagos ou "barbeiros". These Fac. Med. Rio de Janeiro, 118 pp., figs. 1-58.

PINTO, C.,

1931. Valor do rostro e antenas na caracterização dos gêneros de Triatomídeos (Hemiptera, Reduvidioidea). *Bol. Biol.,* 19 : 45-136, 70 figs., 1 quadro.

RODRIGUES, B. A. & MELLO, G. B.,

1942. Contribuição ao estudo da Tripanosomíase Americana. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz,* 37 (1) : 77-90, ests. 1-2, figs. 1-8.

Stal, C.,

1859. Monographie der Gattung *Conorhinus* und Verwandten. *Berl. Ent. Z.*, 3 : 99-117, tab. 6, figs. I-IV.

Stoll, C.,

1788. Représentation exactement colorée d'après nature des Cigales et des Punaises, qui se trouvent dans les quatre parties du monde, l'Europe, l'Asie, l'Afrique et l'Amérique ; rassemblées et décrites par Caspar Stoll, vol. 2 (Punaises), Amsterdam, 172 pp., 41 pls.

Usinger, R. L.,

1939. Descriptions of new Triatominae with a key to genera (Hemiptera, Reduviidae). *Univ. Calif. Publ. Ent.*, 7 (3) : 33-56, pl. 1.

Walker, F.,

1873. Catalogue of the specimens of Hemiptera Heteroptera in the collections of the British Museum. Part. 8, 220 pp., London.

# Novo transmissor da doença de Chagas na cidade do Rio de Janeiro, D. F. Estudo dos gêneros Belminus Stal, 1859, Bolbodera Valdés, 1910 e descrição de Parabelminus carioca n. g., n. sp. (Hemiptera, Triatomidae) (*)

por

Herman Lent

(Com 10 figuras no texto)

No decorrer de pesquisas sobre doença de Chagas que veem sendo realizadas na cidade do Rio de Janeiro (Distrito Federal) pelos Drs. Geth Jansen e F. Nery Guimarães, da Divisão de Estudos de Endemias do Instituto Oswaldo Cruz, após verificação de *Panstrongylus megistus* Burmeister, 1835 infectados e atraidos pela luz em um grande edifício situado no bairro de Santa Tereza e do achado de gambás (*Didelphis aurita* Wied) tambem infectados pelo *Schizotrypanum cruzi*, foram esses colegas levados a procurar os ninhos desses didelfídeos afim de conseguir revelar o transmissor [vide Guimarães, F. N. & Jansen, G., 1943, Novo transmissor silvestre do *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi* (Chagas, 1909). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 38 (3) : 437-442].

Então, foi possivel verificar que esses ninhos eram construidos em palmeiras da espécie *Attalea indaya* Drude (Kuhlmann det.) onde foram encontrados vários exemplares de um triatomídeo que tambem se mostraram infectados, conforme observaram Jansen & Guimarães, a quem somos agradecidos por nos terem permitido estudar a interessante espécie que a seguir vem descrita e que constitue, segundo nos parece no momento, um novo gênero, com características marcadamente semelhantes às de *Belminus* Stal, 1859 e *Bolbodera* Valdés, 1910.

*Belminus*, *Bolbodera* e *Parabelminus* n. g. constituem um grupo muito bem definido cujas homologias não podemos estudar no momento por não possuirmos do primeiro gênero certos dados morfológicos precisos. De qualquer forma, entretanto, fazemos aqui um estudo comparativo razoavel que terá valor até que novos elementos possam ser adicionados aos que conseguimos reunir e publicamos neste trabalho.

* Recebido para publicação a 1 de junho e dado à publicidade em junho de 1943.

## Gênero **Belminus** STAL, 1859

*Belminus* STAL, 1859, págs. 101, 102.
*Belminus* STAL, 1868, pág. 123 (chave).
*Belminus* STAL, 1872, pág. 112.
*Belminus* WALKER, 1873, pág. 81 (chave).
*Belminus* WALKER, 1873, págs. 12, 14.
*Belminus* LETHIERRY & SEVERIN, 1896, pág. 115.
*Belminus* CHAMPION, 1898, pág. 180.
*Marlianus* DISTANT, 1902, pág. 191.
*Belminus* NEIVA, 1913, págs. 74-77.
*Belminus* NEIVA, 1914, págs. 5, 62-63.
*Belminus* DEL PONTE, 1921, pág. 159.
*Belminus* HUSSEY, 1922, pág. 110.
*Belminus* NEIVA *in* PINTO, 1925, pág. 11.
*Belminus* BRUNER & FRACKER, 1926, pág. 248.
*Belminus* LARROUSSE, 1927, págs. 72, 73.
*Belminus* PINTO, 1927, págs. 109, 113.
*Marlianus* PINTO, 1927, pág. 113.
*Belminus* PINTO, 1927, pág. 272.
*Marlianus* PINTO, 1927, pág. 272.
*Belminus* PINTO, 1930, pág. 201.
*Belminus* DEL PONTE, 1930, pág. 857.
*Belminus* PINTO, 1931, págs. 122-123.
*Belminus* HASE, 1932, págs. 592, 593, 602.
*Belminus* PINTO, 1938, pág. 91.
*Belminus* USINGER, 1939, págs. 35 (chave), 37.
*Belminus* C. LIMA, 1940, págs. 186, 187 (chave), 190-191.
*Belminus* NEIVA & LENT, 1941, pág. 69 (chave).

O gênero *Belminus* STAL, 1859 foi descrito baseado em uma só espécie, procedente de "Columbia", na mesma ocasião publicada sob o nome de *B. rugulosus*. Em sua descrição original,

> "Caput longe cylindrico-productum, thorace longius, pone oculos subtumídum; tuberculis antenniferis ab oculis quam ab apice capitis nonnihil magis distantibus. Ocelli nulli. Rostrum gracile, articulo basali, secundo longiore, apicali eodem vix dimidio breviore. Antennae capite paulo longiores. Thorax angulis posticis nonnihil prominentibus. Scutellum prope basin utrimque tuberculo conico marginali, retrorsum vergente instructum. Pedes breviusculi, femoribus nonnihil incrassatis, fusiformibus, subtus prope medium spinulosis, spina una majore"

notava-se de característico : a dilatação lateral da cabeça atrás dos olhos, a ausência de ocelos, o rostro com primeiro artículo maior do que o segundo, o escutelo com tubérculo cônico marginal e lateral na base, e os fêmures dilatados e espinhosos.

A espécie *B. rugulosus* foi descrita do seguinte modo :

> "Niger, opacus, rugulosus, apice scutelli luteo ; maculis duabus parvis membranae ad corium fasciisque connexivi sordide flavo-albidis. ♀ Long. 10½, Lat. 3 ½ Millim.
>
> "Patria : Columbia.
>
> "Niger, opacus, glaber, rugulosus. Caput granulatum, thorace vix dimidio longius, pone oculos tumidum, mox pone oculos leviter constrictum, lobis lateralibus apice antrorsum prominulis, acutiusculis; tuberculis antenniferis nonnihil ante medium partis ante-ocularis sitis, apice extus spinuloso-prominulis. Antennae articulo primo brevi, capitis apicem haud attingente, secundo illo duplo longiore. Thorax granulato-rugulosus, lobo antico postico subaequilongo, multituberculato, postico angulis prominentibus, postice subsinuatis, carinis duabus mediis percurrentibus. Scutellum apice anguste productum, latitudine basali nonnihil longius, parte apicali producta lutescente. Hemelytra abdomini vix aequilonga, subtiliter rugulosa, coriacea; membrana ad marginem basalem maculis duabus minutis albidis ornata, una media, altera ad apicem corii. Abdomen disco plano, connexivo faciis angustis flavo-albidis ornato. Tibiae anteriores (foeminarum saltem) fossula spongiosa destitutae"

caracterizando-se por ser espécie pequena, negra, opaca, glabra, rugulosa; ter jugae ("lobis lateralibus") salientes no ápice, um tanto agudos; torax com o lóbulo anterior quase com o mesmo comprimento do posterior e multituberculado e os ângulos posteriores proeminentes; o ápice do escutelo com saliência estreitada e amarelada; membrana com duas manchas esbranquiçadas e pequenas no bordo basal, uma no meio e outra no ápice do cório; conexivo com faixas estreitas amarelo-esbranquiçadas; tíbias anteriores sem fosseta esponjosa.

Logo em 1868 STAL corrige o que havia dito sobre os ocelos, que verificou estarem presentes:

> "Ocellis obsoletissimis, aegerrime distinguendis; capite thorace longiore, pone oculos tumescente; antennis brevibus, articulo primo brevi, parte capitis ante insertionen antennarum sita dimidio breviore; articulo basali rostri articulo secundo paullo longiore; scutello prope basin utrimque processu obtuse dentiformi armato; femoribus nonnihil incrassatis, subtus versus apicem spinulis duabus vel tribus instructis".

Em 1873, WALKER descreve, sob o nome de *Conorhinus diminutus*, proveniente da Venezuela, da coleção do Sr. Dyson, uma pequena espécie que NEIVA, em 1913, tendo oportunidade de examiná-la no Museu Britâ-

nico, onde ainda hoje está, poude verificar sua identidade com *Belminus rugulosus*, cujo tipo tambem havia estudado no Museu de Berlim. Nessa ocasião, NEIVA poude mostrar a DISTANT, que havia criado em 1902, para *C. diminutus* WALKER, 1873, o gênero *Marlianus*, que este nada mais era do que *Belminus* STAL, 1859, *Conorhinus diminutus* devendo ser identificado, então, a *Belminus rugulosus*.

A descrição original de WALKER para *Conorhinus diminutus* é a seguinte:

> "Foem. Niger, pyriformis; caput prothoracis aequilongum; antennae capite longiores, articulo 4.° albido; prothorax scaber, bicarinatus; connexivum luteo-maculatum; pedes breviusculi, sat validi, tarsis ferrugineis; alae anticae abdominis apicem non attingentes, puncto apud corii apicem albido.
>
> "Female. Black, dull, pear-shaped. Head lanceolate, as long as the prothorax; ante-ocular part full twice as long as the post-ocular. Rostrum slender. Antennae longer than the head; first joint less than one-third as long as the ante-ocular head; second nearly twice as long as the first; third as long as the first; fourth whitish, as long as the third. Prothorax scabrous, with two ridges, which diverge hindward; fore lobe longer than the hind lobe, with a tubercle on each side of the fore border; hind lobe obtusely angular and slightly prominent on each side. Connexivum with transverse luteous spots. Legs rather short and stout; tarsi ferruginous. Fore wings not extending to the tip of the abdomen, with a whitish point on the tip of the corium. Length of the body 5 lines.
>
> "Closely allied to *C. circummaculatus*, but differing from it in the markings of the connexivum."

O *gênero Marlianus* teve, por sua vez, a seguinte diagnose original

> "Allied to *Rhodnius* Stal. Head long, cylindrical, apex with a short spine or tubercle on each side; antennae inserted at less than one half from apex, first joint short, not nearly reaching apex of head, second joint longer than first or third; rostrum with the first and second joints subequal in length; pronotum moderately constricted, unarmed on disk; posterior angles sub-prominent and rounded, anterior lobe centrally sulcate, posterior lobe centrally bicarinate; connexivum moderately convexly produced; hemelytra not quite reaching apex of abdomen."

No trabalho de 1913 aludido, NEIVA refere a presença da única espécie de *Belminus* em Costa Rica (Sparta) em material que encontrou no Museu de Washington, e por ter considerado que o gênero havia sido criado por STAL baseado na ausência de ocelos, o que não era verdadeiro, acreditou-o idêntico a *Triatoma*.

HUSSEY (1922) cita o que NEIVA publicou e diz que, entretanto, não foram levados em consideração outros caracteres igualmente importantes sobre os quais STAL baseou o gênero, considerando, então, *Belminus* e *Tria-*

*toma* como distintos, porem colocando *Belminus* e *Marlianus*, com interrogação, na lista sinonímica de *Triatoma*.

Em 1925, NEIVA reafirma o seu conceito, no prefácio da tese de PINTO e ali está referida a observação de HUSSEY encontrando a espécie tipo de *Belminus* em bromeliáceas na Colômbia, como PICADO verificou em Costa Rica.

PINTO (1927) diz que *Marlianus* é sinônimo de *Belminus*, segundo a informação de NEIVA, mas que é "absolutamente impossivel chegar-se àquela verificação" comparando as descrições de WALKER e de DISTANT com a de STAL.

Ao criar a família *Triatomidae*, PINTO não considera o gênero. Porem em 1930 já o inclue em chave e dá a figura que STAL publicou para a espécie tipo. Em 1931, continua a considerá-lo bom gênero, baseado principalmente em duas caracteristicas: escutelo com processo dentiforme obtuso na base e primeiro artículo do rostro mais longo do que o segundo.

Em 1930, DEL PONTE ainda coloca *Belminus* na sinonímia de *Triatoma*, e em 1939 USINGER separa-o, em chave, como bom gênero.

Finalmente, em 1940, C. LIMA diz:

> "Tenho a impressão de *Bolbodera* ser idêntico a *Belminus*. Infelizmente, porem, não posso chegar a qualquer conclusão a respeito, porquanto a espécie tipo de *Belminus, B. rugulosus* Stal, ainda examinada por Neiva quando visitou o Museu Zoológico de Berlim (Neiva, 1913), parece que se perdeu segundo se depreende da seguinte informação que me foi comunicada por carta de março de 1939 do Dr. Hans Sachtleben do Deutsches Entomologisches Institut: 'We have searched for it in vain in the collection of the Zoological Museum of the University of Berlin'."

Da literatura conhecida e acima resumida, conclue-se que:

A) *Belminus* STAL, 1859 é um bom gênero, do qual até hoje só se conhece a espécie tipo, *B. rugulosus* STAL, 1859, descrita inicialmente da Colômbia, depois referida em Venezuela e Costa Rica, já então com seu *habitat* definido, entre as folhas de bromeliáceas.

B) *Marlianus* DISTANT, 1902 e *Conorhinus diminutus* WALKER, 1873, espécie tipo deste gênero, são sinônimos, respectivamente, de *Belminus* e *B. rugulosus*, conforme apurou NEIVA, em 1913, ao confrontar os exemplares tipos de ambos, opinião com a qual DISTANT concordou na ocasião e conforme a lista que em 1939, CHINA teve a gentileza de nos fornecer.

C) A espécie em questão foi sempre insuficientemente conhecida porque, alem da descrição original de STAL para gênero e espécie com alguns

adendos posteriores do mesmo autor, e da de WALKER e DISTANT, e mais a figura esquemática de cabeça que STAL publicou e aquí reproduzimos (figura 1), nada mais existe de utilidade para sua boa caracterização.

D) Da reunião dos caracteres publicados, com base na lista sinonímica adicionada, pode extrair-se a seguinte diagnose específica.

*Belminus rugulosus* STAL, 1859, págs. 102-103, 117, taf. VI, fig. I
*Belminus rugulosus* STAL, 1872, pág. 112.
*Conorhinus rugulosus* WALKER, 1873, pág. 14.
*Conorhinus diminutus* WALKER, 1873, págs. 19-20.
*Belminus rugulosus* LETHIERRY & SEVERIN, 1896, pág. 115.
*Conorhinus diminutus* LETHIERRY & SEVERIN, 1896, pág. 116.
*Marlianus diminutus* DISTANT, 1902, págs. 191, 192.
*Triatoma rugulosa* NEIVA, 1913, págs. 74-77.
*Belminus rugolusus* PICADO, 1913, pág. 347 (erro tipog.).
*Triatoma rugulosa* NEIVA, 1914, págs. 62-63.
*Triatoma rugulosa* DEL PONTE, 1921, págs. 161, 187-188.
*Triatoma rugulosa* HUSSEY, 1922, pág. 120.
*Triatoma rugulosa* DEL PONTE, 1925, pág. 32.
*Triatoma rugulosa* NEIVA *in* PINTO, 1925, pág. 11.
*Triatoma rugulosa* PINTO, 1925, págs. 67, 98.
*Belminus rugulosus* PINTO, 1927, pág. 281, fig. 13.
*Belminus rugulosus* PINTO, 1927, pág. 112, fig. 13.
*Belminus rugulosus* PINTO, 1930, pág. 205, fig. 72.
*Triatoma rugulosa* DEL PONTE, 1930, págs. 898-899, 917.
*Belminus rugulosus* PINTO, 1931, págs. 52, 123.
*Belminus rugulosus* HASE, 1932, págs. 599, 610.
*Belminus rugulosus* NEIVA & LENT, 1936, págs. 177, 184, 189.
*Belminus rugulosus* LENT & PIFANO, 1939, pág. 685.
*Belminus rugulosus* USINGER, 1939, pág. 35.
*Belminus rugulosus* C. LIMA, 1940, pág. 187.
*Belminus rugulosus* NEIVA & LENT, 1941, págs. 69, 71, 87, 90, 92, fig. 6.

Inseto pequeno, com 10,5 a 11 mm. de comprimento para as fêmeas, achatado, piriforme, negro, opaco, ruguloso e glabro; somente o ápice do escutelo é amarelo, a membrana dos hemi-élitros tem duas manchas esbranquiçadas e pequenas e as faixas do conexivo são de um branco-amarelado sujo.

A cabeça é cilíndrica, lanceolada, granulosa, tão longa quanto o pronoto e mais curta que as antenas, possuindo *jugae* agudos e salientes no ápice e região ante-ocular com duas vezes o comprimento da post-ocular. Ocelos inconspícuos, difíceis de distinguir. Região post-ocular dilatada logo atrás dos olhos e estreitada para o pescoço. Tubérculos antenífero situados um pouco adiante do meio da região ante-ocular e com ápice externo proemi-

nente e espinhoso; o primeiro artículo antenal não atinge o ápice da cabeça e tem menos de 1/3 do comprimento da região ante-ocular; o segundo artículo antenal tem cerca de duas vezes o comprimento do primeiro; o terceiro artículo é tão longo quanto o primeiro e o quarto, tem as mesmas dimensões do terceiro e é esbranquiçado. Rostro delgado, com primeiro artículo maior do que o segundo ou subigual e terceiro artículo cerca da metade mais curto que os outros.

Pronoto granuloso e rugoso; lóbulo anterior granuloso quase do mesmo comprimento que o posterior, levemente maior, sulcado centralmente; no lóbulo posterior, duas carenas que divergem posteriormente. Ângulos anteriores subproeminentes e arredondados; ângulos posteriores proeminentes obtusos e subsinuados posteriormente.

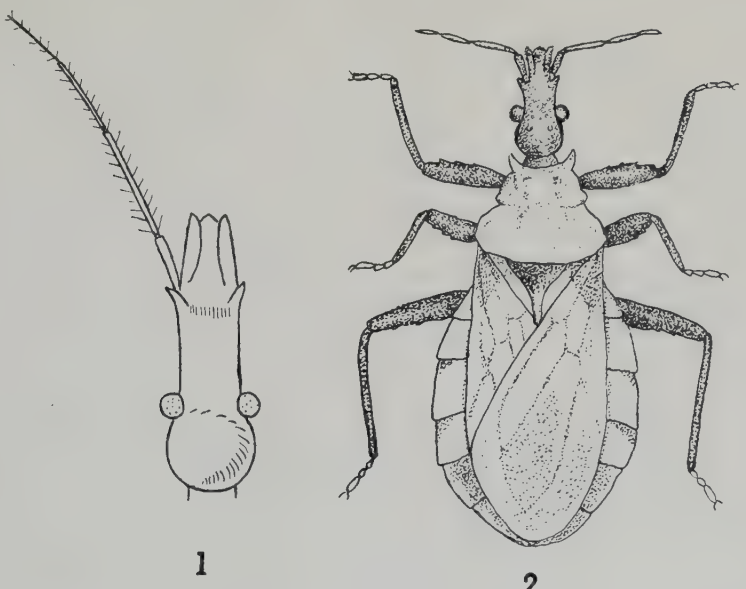


Fig. 1 — *Belminus rugulosus* Stal, 1859; cabeça, segundo Stal. Fig. 2 — *Bolbodera scabrosa* Valdés, 1910; total, segundo Bruner & Fracker.

Escutelo de ápice com saliência estreitada e amarelada, um pouco mais comprido do que a largura da base e com tubérculo cônico marginal e lateral na base.

Patas curtas e fortes; fêmures dilatados e espinhosos, com dois ou três espinhos na face inferior e no ápice; tíbias anteriores (pelo menos nas fêmeas) sem fosseta esponjosa; tarsos ferrugíneos.

Hemi-élitros não atingindo o ápice do abdome, sutilmente rugosos; membrana com o bordo basal tendo duas manchas esbranquiçadas e pequenas, uma no meio e outra no ápice do cório.

Abdome plano. Conexivo nítido, moderadamente convexo, com faixas estreitas transversais amarelo-esbranquiçadas.

## Gênero **Bolbodera** Valdés, 1910

*Bolbodera* Ms. Uhler.
*Bolbadea* Valdés Ragués, 1910, pág. 435 (erro tipog.).
*Bolbodera* Valdés Ragués, 1914, pág. 101.

*Bolbodera* BRUNER & FRACKER, 1926, págs. 247-248.
*Callotriatoma* USINGER, 1939, págs. 35, 36-37.
*Bolbodera* C. LIMA, 1940, págs. 186, 187 (chave), 191.
*Bolbodera* USINGER, 1941, pág. 49.
*Bolbodera* NEIVA & LENT, 1941, pág. 69.

Em 1926, BRUNER & FRACKER, ao estudarem um exemplar de hemíptero pertencente ao Museu Gundlach de Havana (Cuba) e rotulado *"Bolbodera scabrosa* Uhler" resolveram estabelecer um novo gênero e nova espécie que então descreveram como *Bolbodera* n. g. e *B. scabrosa* n. sp. dando uma figura total do inseto (fig. 2) de dorso. As descrições publicadas são pormenorizadas, mas falhas em certos detalhes; nenhuma informação sobre o rostro, por exemplo, é fornecida. O gênero ficou, então, esquecido pelos autores que estudaram os Triatomídeos, apezar de BRUNER & FRACKER o caracterizarem entre os *Reduvioidea* comparando-o com os gêneros *Triatoma, Belminus* e *Meccus,* da seguinte forma:

> "This genus falls clearly within the subfamily Reduviinae as the pronotum is constricted in front of the middle, the wings are without a quadrangular areole, and the scutellum is normal. The insertion of the antennae and the location of the ocelli show the relation to *Triatoma* and its relatives. There is a resemblance to *Belminus* Stal in the thickened and armed femora, but the greatly produced anterior angles of the pronotum and the fact that the scutellum is unarmed at the base are distinguishing points. *Meccus* shows some similarity in the deeply constricted pronotum and the presence of the tubercles on the anterior lobe. The short antennae and the shape of the apex of the head are, however, characteristic. The size is much smaller than in other relatives of *Triatoma."*

USINGER em 1939, desconhecendo o trabalho de BRUNER & FRACKER, ao estudar um exemplar macho proveniente de Loma del Gato, Cobre Range, Oriente, Cuba, teve oportunidade de descrever o mesmo inseto sob o nome de *Callotriatoma cubana* n. g., n. sp.

Logo após a publicação do trabalho do hemipterologista americano, em 3-XI-1939, escrevemos a USINGER uma carta onde salientavamos a semelhança das duas espécies, nestes termos :

> "I got the impression that your *Callotriatoma cubana* is synonym of *Bolbodera scabrosa* Bruner & Fracker, 1926 (see Ann. Ent. Soc. America, 19 (2) : 247-251, 1 fig.), and should like to have your opinion on this matter, as it seems to me that you did not read the paper of Bruner & Fracker. On comparing the description and the figure, given by these authors, with those of your paper, I believe that, with the exception of insignificant differences, which may be small imperfections, there is nothing which may indicate difference of material."

Em resposta, com data de 17-I-1940, recebemos o seguinte:

> "I quite agree with your conclusion regarding the synonymy of *Callotriatoma* and *Bolbodera*. Although I have not seen Bruner & Fracker's type which is apparently in the Gundlach collection in Havana, yet I feel that the two species are identical."

E USINGER foi mais alem em sua contribuição para a inclusão do gênero entre os Triatomídeos, publicando em 1941 interessante artigo onde estabelece a paternidade de VALDÉS RAGUÉS para o nome proposto por BRUNER & FRACKER, que pertencia a UHLER, em manuscrito, publicado com erros tipográficos pelo autor cubano, em 1910, e depois corrigido por ele próprio em 1914, para, finalmente, ser usado por BRUNER & FRACKER, em 1926, que desconheciam os trabalhos anteriores.

Ao descrever *Callotriatoma* tambem USINGER chamou atenção para sua semelhança com *Belminus* :

> "Suggestive of the genus *Belminus* Stal in size, position of ocelli, and granulation of body surface. However, in that genus the head is longer and cylindrical; the eyes are larger; the first rostral segment is longer than the second; the pronotal disk and margins are unarmed, and the anterolateral angles are scarcely produced; the scutellum has a subbasal, obliquely divergent tubercle on either side; the connexivum above is submarginally sharply depressed; the femora possess stout spines only subapically beneath; and the coloration is dark brown to black with connexivum alternated with ochraceous on the posterior fourth of each segment. In *Triatoma* the ocelli are situated posterolaterally on obliquely directed elevations, the head is less flattened, and there are no granular callosities behind the eyes."

De fato, os dois gêneros são bem próximos e cada qual encerra somente uma única espécie; podem ser distinguidos pelo quadro que publicamos páginas adiante.

A descrição de *Bolbodera scabrosa* VALDÉS, 1910 pode ser assim resumida, com sua sinonímia:

*Bolbodera scabrosa* MS. UHLER.
*Bolbadea leabrusa* VALDÉS RAGUÉS, 1910, pág. 435 (êrro tipog.).
*Bolbodera scabrosa* VALDÉS RAGUÉS, 1914, pág. 101.
*Bolbodera scabrosa* BRUNER & FRACKER, 1926, págs. 248-249, fig. 1.
*Callotriatoma cubana* USINGER, 1939, págs. 36, 37-38, pl. 1.
*Bolbodera scabrosa* C. LIMA, 1940, pág. 186.
*Bolbodera scabrosa* USINGER, 1941, págs. 49-50.
*Bolbodera scabrosa* NEIVA & LENT, 1941, págs. 69, 87, 90.

Comprimento — ♂ 8,83 mm.

Largura — (ao nivel do pronoto) ♂ 2,3 mm; (ao nivel do conexivo) ♂ 3,39 mm.

Inseto pequeno, alongado e largo, de colorido geral flavo-testáceo, preto e vermelho ou róseo; o tegumento cutâneo é rugoso-granuloso e glabro, somente com poucos pêlos diminutos nas antenas e ápice das tíbias.

Cabeça preta, alongada, de comprimento subigual ao do pronoto, finamente tuberculada ou granulada. Região anteocular comparativamente larga e *jugae* salientes, ultrapassando o *tylus*.

Olhos salientes, de tamanho moderado, com cerca de metade da largura da distância inter-ocular, situados atrás de duas impressões transversais estreitas. Ocelos lisos, polidos, muito pouco elevados, tão separados entre si quanto os olhos. A região post-ocular é um tanto curta, consideravelmente dilatada e de constricção posterior.

Tubérculos anteníferos grandes, cônicos, projetando-se para os lados da cabeça, implantados adiante do meio da região ante-ocular. Primeiro artículo antenal pardo, curto, um tanto forte e quase atingindo o ápice da cabeça; segundo artículo pardo, cerca de duas vezes o comprimento do primeiro; terceiro artículo testáceo, infuscado na base e mais curto que o segundo; quarto artículo antenal testáceo, infuscado na base, curto e subigual ao terceiro. A proporção dos artículos é 6:19:10:11.

Rostro muito longo e delgado e segmentos na proporção 9:22:5. Segundo artículo rostral com cerca de 2,5 vezes o comprimento do primeiro; terceiro artículo com cerca da metade do comprimento do primeiro.

Pescoço liso.

Pronoto flavo-testáceo ou vermelho, com a base infuscada, ¼ mais curto que largo, com a largura posterior com o dobro da anterior; possue forte constricção lateral e um sulco adiante do meio. Lóbulo anterior finamente tuberculado, com duas elevações grandes e muito obtusas adiante do meio do lóbulo. Lóbulo posterior finamente granuloso e com duas carenas que se tornam obsoletas adiante da margem posterior. Ângulos anteriores salientes para diante e grandes, como um dente subporrecto achatado de cada lado do pescoço, com cerca da metade do tamanho do lóbulo. Ângulos posteriores obtusos, levemente salientes e elevados.

Escutelo um pouco mais longo do que largo, com superfície esculturada e tuberculada; ápice como um longo espinho obtuso que tem mais da metade do comprimento do escutelo propriamente dito.

Patas pretas. Fêmures moderadamente dilatados, muito finamente granulados, armados em baixo com dentes cônicos (4 ou 5). Tarsos flavescentes.

Hemi-élitros grandes, quase atingindo a extremidade do abdome, nervulação bem acentuada, cório granular na metade externa e liso junto aos ângulos internos, vermelho nos 2/3 posteriores e pálido-testáceo no limite com a membrana.

Abdome preto, achatado ventralmente. Conexivo largo, arrendondado, consideravelmente expandido, vermelho ou róseo com manchas pretas no ângulo anterior dos terceiro e quarto segmentos e os segmentos cinco e seis completamente pretos.

## Parabelminus n. g.

*Triatomidae*. Pequeno, bem achatado, granuloso e piloso em todo o tegumento.

Cabeça alongada, levemente maior do que o pronoto. Região ante-ocular um pouco menor do que a largura da cabeça medida do bordo externo de um olho ao bordo externo do outro e com cerca de duas vezes o comprimento da região post-ocular; *tylus* muito curto e retangular; *jugae* grandes e grossas, ultrapassando o *tylus* de cerca de 2/3 o seu comprimento; tubérculos parafrontais bem aparentes. Região post-ocular globosa e levemente dilatada lateralmente. Olhos nítidos, laterais, tendo de largura menos da metade da distância inter-ocular. Ocelos inconspícuos, lisos, pequenos, ao nivel do tegumento. Tubérculos anteníferos muito curtos, implantados bem lateralmente e um pouco para diante do meio da região ante-ocular e com saliência apical externa.

Antenas com primeiro artículo curto, atingindo o ápice do *tylus;* segundo artículo com cerca de três vezes o comprimento do primeiro; terceiro artículo quase do mesmo comprimento do segundo, e quarto artículo levemente maior do que o anterior.

Rostro reto, longo, achatado dorso-ventralmente, delgado e quase glabro, com primeiro artículo curto, segundo artículo muito longo (cerca de três vezes o comprimento do primeiro), e terceiro artículo igual ao primeiro em comprimento.

Pronoto bem constituido, trapezoidal, um pouco menos comprido que a cabeça, granuloso e desarmado no disco, com lóbulo anterior separado do posterior por um sulco transversal ao nivel de sua metade; os ângulos anteriores são pouco pronunciados e de ponta romba; os ângulos posteriores são levemente salientes e obtusos.

Escutelo curto e largo, muito típico por não possuir ápice em ponta saliente; seu bordo posterior é quase reto e mais curto que o anterior, a forma do conjunto sendo, então, trapezoidal; não existem, tambem, os tubérculos laterais e basais mamiliformes.

Patas curtas e robustas, semelhantes, as duas primeiras iguais em tamanho e a última levemente maior, granulosas. Fêmures robustos, com um par de espinhos fortes em sua face inferior e apical que limitam o ápice de uma zona glabra mediana e escavada em forma de faixa que ocupa a metade apical e inferior dos fêmures e que serve de superfície de contacto e encaixe para a tíbia correspondente quando esta se dobra sobre o femur. Tíbias mais delgadas que os fêmures, levemente achatadas lateralmente e com um pequeno cotovelo posterior que se vem alojar na escavação do femur correspondente entre o par de espinhos assinalado. Tíbias dos três pares de patas com um tufo apical saliente de cerdas finas que recobre, em parte, os tarsos tri-articulados.

Hemi-élitros não recobrindo todo o abdome; cório sem nervuras nítidas, isoladas, a não ser a do clavo.

Abdome rugoso, sem granulações. Conexivo largo na face dorsal e estreito na ventral.

Espécie tipo — *Parabelminus carioca* n. sp.

Proveniência — Rio de Janeiro, D. F., Brasil.

No quadro a seguir podem ser encontrados os caracteres diferenciais em grifo, deste gênero com *Belminus* e *Bolbodera*, alem das afinidades que possuem.

| | *Belminus* Stal, 1859 | *Bolbodera* Valdés, 1910 | *Parabelminus* n. g. |
|---|---|---|---|
| Corpo..... | Pequeno e granuloso, *glabro*. | Pequeno e granuloso, *glabro* | Pequeno e granuloso, *piloso* |
| Cabeça..... | Cilíndrica, tão longa quanto o pronoto. Jugae salientes no ápice. *Região anteocular com cerca do dobro da distância entre as margens externas dos olhos*. Região post-ocular dilatada logo atrás dos olhos. Ocelos inconspícuos, difíceis de distinguir. Tubérculos anteníferos situados um pouco adiante do meio da região ante-ocular. 1.º artículo antenal não atingindo o ápice da cabeça. | Alongada, de comprimento subigual ao do pronoto. Jugae salientes, porrectos, ultrapassando o tylus. *Região ante-acular subigual a largura da cabeça entre as margens externas dos olhos*. Região post-ocular dilatada logo atrás dos olhos. Ocelos lisos, polidos, muito pouco elevados. Tubérculos anteníferos grandes, cônicos, implantados adiante do meio da região ante-ocular. 1.º artículo antenal quase atingindo o ápice da cabeça. | Alongada, levemente maior que o pronoto. Jugae muito salientes, ultrapassando o tylus de cerca de 2/3 o seu comprimento. *Região ante-ocular um pouco menor do que a largura da cabeça entre as margens externas dos olhos*, e cerca de 2 vezes o comprimento da post-ocular. Região post-ocular mais ou menos globosa e levemente dilatada lateralmente. Ocelos inconspícuos, lisos, ao nível do tegumento. Tubérculos anteníferos muito curtos, implantados bem lateralmente e um pouco para diante do meio da região ante-ocular. |
| Rostro..... | *Com 1º artículo maior do que o 2º, subigual.* | *Com 2º artículo cerca de 2,5 vezes maior do que o 1º.* | *Com 2º artículo cerca de 3 vezes maior do que o 1º.* |
| Pronoto..... | Granuloso, *desarmado no disco* e constricção moderada transversal. Lóbulo anterior maior do que o posterior. *Angulos anteriores subproeminentes e arredondados.* | Granuloso e *com 2 elevações grandes medianas no lóbulo anterior* que é separado do posterior ao nivel do meio por forte constricção. *Angulos anteriores muito grandes e fortemente salientes constituindo um dente grande de cada lado do pescoço.* | Granuloso e *desarmado no disco*. Sulco transversal ao nivel do meio. *Angulos anteriores pouco pronunciados e de ponta romba.* |
| Escutelo..... | *Ápice com saliência estreitada e tubérculo cônico marginal e lateral na base.* | *Com ápice estreito, longo e obtuso e com mais da metade do comprimento do escutelo próprio dito. Sem tubérculos na base.* | *Muito tipico por não possuir saliência apical, de forma trapezoidal, curto e largo. Sem tubérculos na base.* |
| Patas..... | Curtas e fortes; fêmures dilatados e espinhosos. | Fortes; fêmures um tanto dilatados, armados com alguns dentes ou fortes espinhos; *tíbias e tarsos normais.* | Curtas e robustas; fêmures dilatados com *1 par de espinhos fortes. Tarsos encaixados, em parte, em um tufo saliente de cerdas nos 3 pares.* |
| Distribuição geográfica..... | Colômbia, Venezuela, Costa Rica. | Cuba. | Brasil. |
| | *Belminus* Stal, 1859 | *Bolbodera* Valdés, 1910 | *Parabelminus* n. g. |

## **Parabelminus carioca** n. sp.

(Figs. 3 a 10)

Comprimento — ♂ 9 a 9,5 mm, ♀ — 10 mm.

Largura — (ao nivel do pronoto) ♂ 2,5 mm ♀ 3 mm; (ao nivel do abdome) ♂ 4 a 4,5 mm, ♀ 5 mm.

Inseto pequeno (fig. 3), bem achatado, de colorido geral preto com manchas pardo-amareladas na membrana dos élitros, dispostas de modo tal que, com o inseto em repouso, observam-se duas manchas de tamanho regular nas asas abaixo e ao lado do escutelo e outras duas menores no bordo lateral, no ápice do cório e ao nivel do meio do abdome (uma só mancha de cada tipo em cada élitro); o tegumento é granuloso e revestido de pilosidade aparente e dourada que se distribue em todas as regiões do corpo do inseto inclusive no cório do élitros. Em geral, no ápice de cada grânulo existe uma cerda nítida que se implanta e se desvia um tanto lateralmente (fig. 6.).

Cabeça alongada (fig. 4) com cerca de 2 mm de comprimento (2,17 mm medido do ápice das *jugae* e 1,95 mm medido do ápice do *tylus* no macho), levemente maior do que o pronoto, de colorido preto uniforme, granulosa e revestida de numerosas cerdinhas curvadas e de colorido amarelo, levemente abaulada em sua face dorsal e reta e achatada na ventral. Região ante-ocular um pouco menor do que a largura da cabeça medida da margem externa de um olho à do olho oposto, com cerca de duas vezes o comprimento da região post-ocular (no macho, desde o ápice do *tylus* 0,90 mm; desde o ápice das *jugae* 1,170mm), com *tylus* curto e de extremidade anterior reta e tão larga quanto a posterior e bordos laterais paralelos, isto é, de forma retangular; *jugae* lateralmente ao *tylus*, grandes e grossas, com 0,558 mm de comprimento, achatadas lateralmente e muito salientes, ultrapassando o *tylus* de cerca de 2/3 o seu comprimento, ultrapassando tambem a própria base do labro que se implanta no *tylus* e se curva para baixo quando o inseto está em posição de repouso. Tubérculos parafrontais bem aparentes, implantados ao nivel do *tylus* e dos tubérculos anteníferos e projetando-se para diante até cerca da metade do comprimento do *tylus*. *Tylus*, *jugae* e tubérculos parafrontais são tambem revestidos de cerdas bem visiveis.

Olhos nítidos, situados bem na face lateral da cabeça, medindo de largura menos da metade da distância inter-ocular, porem não atingindo a 1/3 desta (no macho, largura do olho 0,273 mm; distância inter-ocular 0,682 mm); inferiormente, os olhos são distintamente separados e mais afastados um do outro do que a largura do rostro. Ocelos inconspícuos, lisos, pequenos, situados ao nivel do tegumento, para trás dos olhos e à igual distância da margem posterior da cabeça, e ao mesmo nivel do bordo interno dos olhos; os ocelos são ligados entre si por um sulco glabro transversal pouco distinto, do meio do qual parte um outro sulco com o mesmo aspecto, que se dirige para a margem posterior da cabeça. A região post-ocular, onde estão situadas estas últimas estruturas, é mais ou menos globosa e levemente dilatada lateralmente (no macho, a largura logo atrás dos olhos é de 1,091 mm, enquanto logo adiante dos olhos é de 0,843 mm), mede de comprimento total no macho 0,558 mm; no seu 1/3 anterior e mediano existem duas zonas glabras e largas que se prolangam em faixa estreita para diante na direção dos tubérculos parafrontais, mas sem atingí-los.

Tubérculos anteníferos muito curtos, implantados bem lateralmente um pouco para diante do meio da região ante-ocular, pretos, granulosos e revestidos de cerdas, com uma saliência apical externa bem aparente e de ponta romba; primeiro artículo antenal um pouco mais claro, curto (no macho, 0,285 mm de comprimento por 0,112 mm de largura),

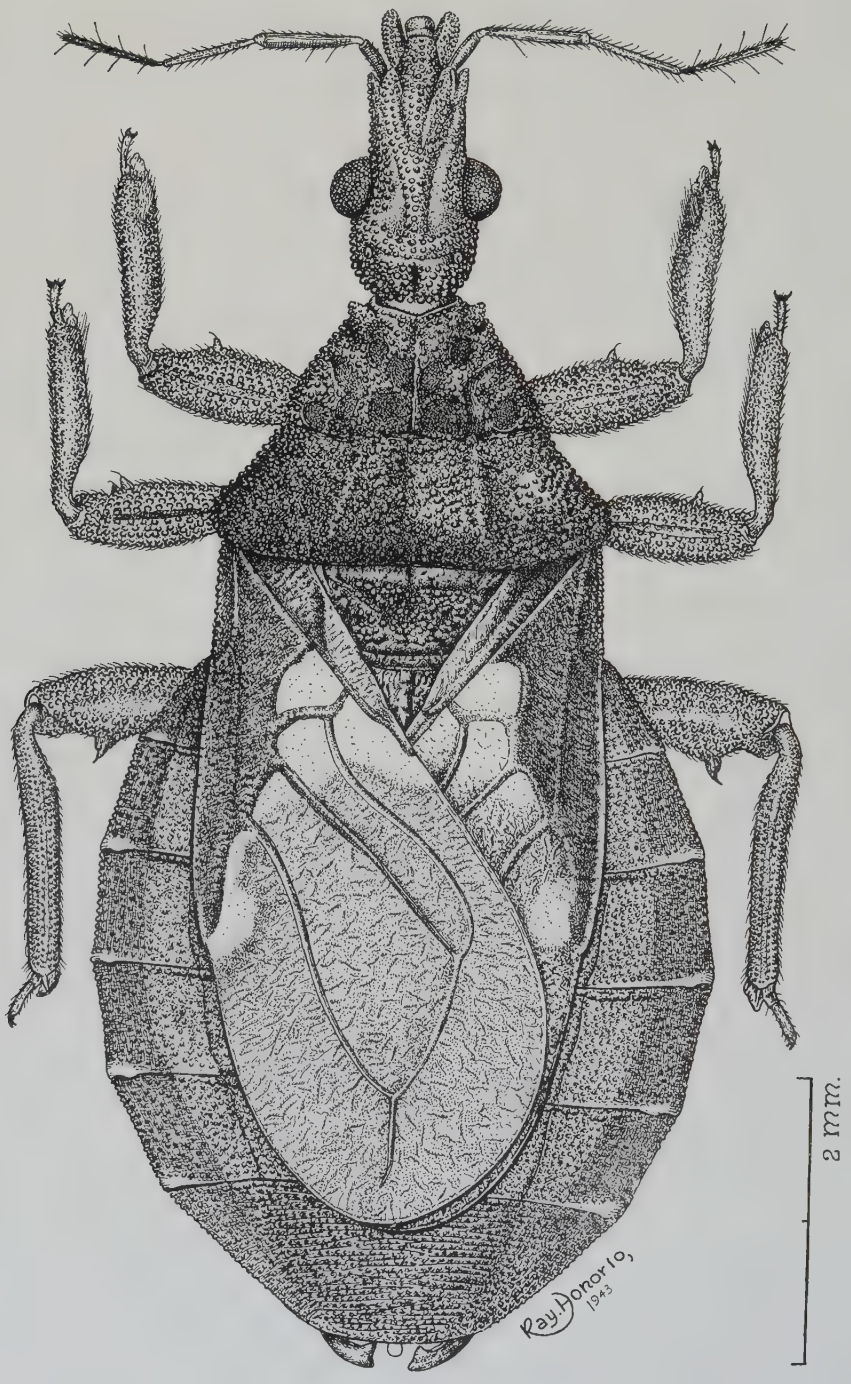



Fig. 3 — *Parabelminus carioca* n. g., n. sp., ♂

atingindo o ápice do *tylus*, implantado no tubérculo antenífero correspondente de tal modo que sua direção é para a face inferior do inseto, seu revestimento piloso é fraco; segundo artículo antenal de colorido igual ao primeiro, revestido de cerdas mais abundantes das quais algumas mais longas e finas, com cerca de três vezes o comprimento do primeiro (no macho, 0,670 mm de comprimento por 0,074 mm de largura); terceiro e quarto artículos mais delgados e pálidos, de colorido amarelado, com cerdas mais alongadas e numerosas, o terceiro é quase do mesmo tamanho do segundo (no macho, 0,695 mm de comprimento por 0,037 mm de largura) e o quarto é levemente maior (no macho, 0,868 mm de comprimento por 0,037 mm de largura) e tem ápice um pouco dilatado.

Rostro reto, longo, achatado dorso-ventralmente, delgado e largo principalmente na metade basal do segundo artículo que se vai afilando até a ponta (fig. 4); é quase glabro, só possuindo poucas cerdinhas esparsas que não se condensam nem na ponta do terceiro artículo; o primeiro artículo está situado entre as *jugae*, é curto (no macho, 0,546 mm) e termina ao nivel da implantação dos tubérculos anteníferos, é sulcado em sua face superior pelo labro que é largo e livre na base e termina em ponta afilada sobre este artículo; o segundo artículo é muito longo (no macho, 1,215 mm de comprimento), indo até a margem posterior da cabeça, com cerca de três vezes o comprimento do primeiro artículo; o terceiro artículo é mais delgado, afilado, com igual comprimento do primeiro (no macho, 0,508 mm) e repousa sobre o sulco proesternal. A face inferior da cabeça, onde repousa o rostro, é escavada e lisa.

Pescoço liso, preto, sem manchas, mais claro inferiormente.

Pronoto bem constituido, de forma trapezoidal, preto, um pouco menos comprido que a cabeça (1,947 mm de comprimento no macho), inteiramente granuloso e revestido de cerdas curtas, amareladas, com o lóbulo anterior distintamente separado do posterior por um sulco transversal ao nivel do meio do pronoto; no macho, a largura ao nivel dos ângulos anteriores é de 0,992 mm, e ao nivel dos ângulos posteriores de 2,604 mm. O lóbulo anterior do pronoto é todo ele um tanto convexo, levemente bosselado, porem sem saliências ou tubérculos nítidos; possue as zonas glabras normais e é granuloso, em cada granulação implantando-se uma pequena cerda curvada. O lóbulo posterior tem revestimento idêntico ao anterior quanto às granulações e o colorido é uniforme: as carenas longitudinais nascem ao nivel do sulco transversal entre os lóbulos e se prolongam até a margem posterior do pronoto, não sendo, entretanto, muito salientes. O lóbulo posterior é escavado medianamente, entre as carenas, e os ângulos posteriores são levemente salientes e obtusos. O colarinho se confunde com o lóbulo anterior devido à uniformidade do colorido preto, mas chega a ser visível; os ângulos anteriores do pronoto são saliências laterais e externas do colarinho, pouco pronunciadas e de ponta romba.

Proesterno preto e granuloso; as granulações são grossas e em cada uma delas implanta-se uma cerda amarelada mais longa e curvada; o sulco proesternal é liso e ocupa a parte mediana do proesterno, tem a forma triangular e é margeado por duas saliências em seu bordo anterior. Meso- e metaesterno de colorido e tegumento igual ao do proesterno, o mesoesterno com duas saliências em seu bordo posterior, que se dirigem para trás, para o metaesterno, que por sua vez é mais elevado, mas não tem qualquer detalhe estrutural.

Pro-, meso- e metapleuras com iguais característicos de tegumento e colorido preto uniforme; é possivel observar, no ângulo póstero-interno da propleura, para fora da coxa do primeiro par de patas, uma saliência em forma de ponta que se dirige para a mesopleura. Orifício estigmático mesopleural bem nítido.

Escutelo curto e largo (fig. 5), muito típico por não possuir ápice saliente, medindo no macho 0,843 mm de comprimento mediano por 1,798 mm de largura na base; seu colo-

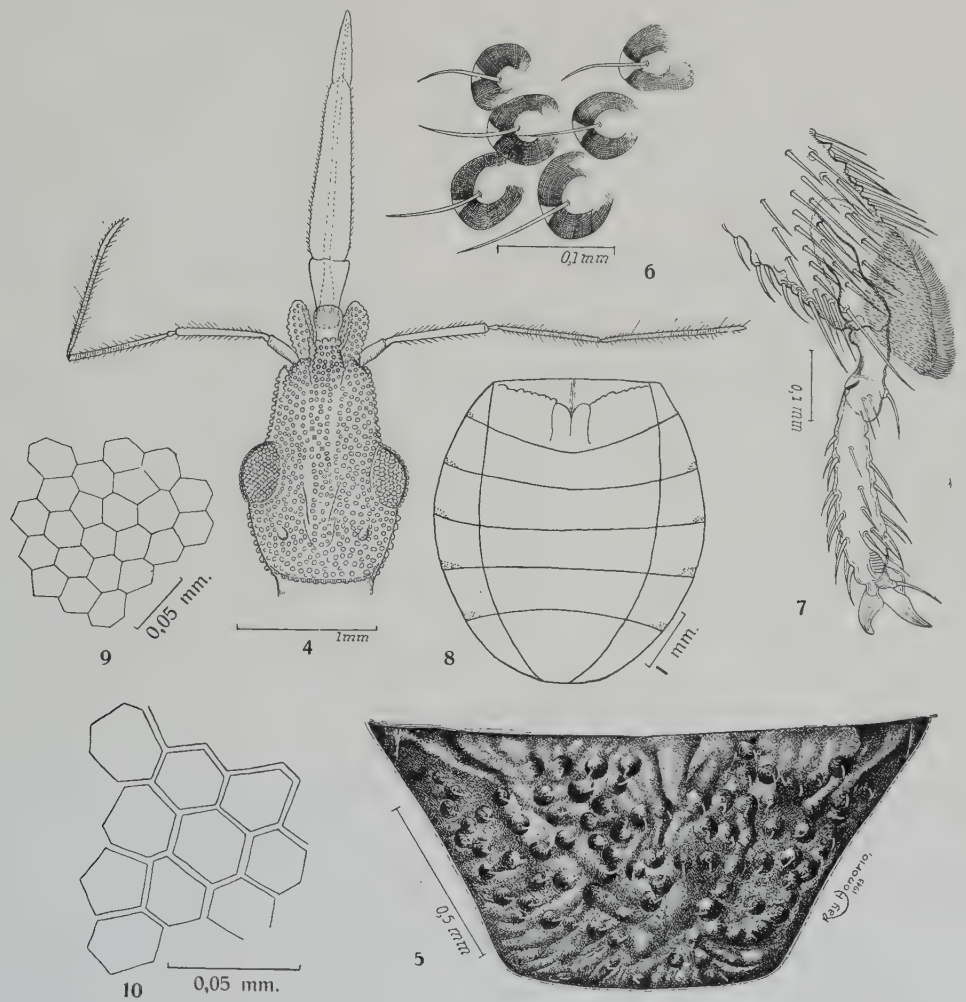
rido é uniformemente preto, granuloso e com cerda amarelada curvada em cada grânulo; um pouco para trás de seu bordo anterior é escavado e glabro e de cada lado deste bordo converge para o centro uma crista pouco acentuada cujos detalhes se perdem no meio do escutelo, que é fortemente granuloso; os bordos externos são inclinados de diante para trás e de fora para dentro e terminam num curto bordo posterior, de leve concavidade anterior. A impressão é de que o escutelo normalmente triangular dos *Triatomidae* teria sido cortado no ápice, transformando-se num trapézio; o inseto estando em repouso, os élitros não conseguem fechar completamente na linha mediana devido ao escutelo ser curto e largo, ficando visivel uma curta faixa transversal mediana da face dorsal do primeiro segmento abdominal e mais o sulco que o separa do segundo e, ainda, parte da crista longitudinal que neste existe (figs. 3 e 8).

Patas curtas e robustas, semelhantes, as duas primeiras iguais em tamanho e a terceira levemente maior, granulosas em todos os segmentos exceto nos tarsos e com cerdas curtas e amareladas não muito mais numerosas do que nas outras partes do corpo; seu colorido é uniformemente preto, mais claro sómente nas articulações. As coxas e os trocânteres são bem aparentes e medem no macho, respectivamente, 0,558 mm, 0,533 mm, 0,620 mm, e 0,496 mm, 0,434 mm, 0,434 mm nos 1.°, 2.° e 3.° pares de patas. Os fêmures são uniformemente robustos nos três pares de patas, onde medem no macho 1,488 mm, 1,612 mm e 2,046 mm de comprimento respectivamente; possuem um par de espinhos fortes com uma cerda no ápice em sua face inferior e apical, mais salientes no terceiro par, que limitam a parte apical de uma zona glabra mediana e escavada em forma de faixa que ocupa a metade apical e inferior dos fêmures e que serve de superfície de contacto para a tíbia correspondente quando esta se dobra sobre o femur. As tíbias são mais delgadas que os fêmures e possuem, aproximadamente, o mesmo comprimento, o revestimento é igual, porem com pilosidade mais fina e maior; são levemente achatadas lateralmente e com um pequeno cotovelo posterior que se vem alojar na escavação do femur correspondente acima descrita, entre o par de espinhos existentes. Fato de nota é que as tíbias dos três pares de patas possuem pequeno tufo saliente de cerdas lembrando fosseta esponjosa, que recobre, em parte, os tarsos. Os tarsos tambem teem aspecto muito típico: são triarticulados, curtos, o primeiro artículo muito curto e encaixado no ápice da tíbia, o segundo pouco maior do que ele e o terceiro com o dobro do comprimento do segundo, no ápice do qual se inserem duas unhas curtas. O primeiro artículo tarsal e parte do segundo acham-se como que encaixados no ápice da tíbia que se projeta para fora à custa do respectivo tufo saliente de cerdas (fig. 7). As tíbias dos três pares de patas, no macho, medem respectivamente 1,451 mm, 1,612 mm e 2.170 mm. As dimensões dos tarsos, tambem em um exemplar macho, são: 0,062; 0,074 e 0,223 mm para o primeiro par de patas; 0,062; 0,099 e 0,279 mm para o segundo par; 0,087; 0,124 e 0,279 mm para o terceiro par.

Hemi-élitros não recobrindo todo o abdome, ultrapassando levemente, em ambos os sexos, o último segmento aparente. O cório é de colorido igual ao do corpo em geral, e granuloso, no ápice de cada granulação existindo, tambem, uma cerdinha amarela deitada; não possue nervuras isoladas nítidas, a não ser a do clavo. A membranha é de colorido mais pálido e as nervuras são salientes e como na fig. 3; no limite do cório com a membrana, entre as nervuras, existem manchas amareladas claras que, com o inseto em repouso, dão o aspecto já assinalado anteriormente.

Abdome preto e extremamente rugoso nas duas faces e com abundante pilosidade curta que é menos intensa na face dorsal; não é granuloso, como nas demais regiões do corpo. Na face ventral existem seis segmentos aparentes, além dos genitais, o primeiro sendo pequeno e com a linha intersegmentar pouco aparente, cada qual com um pequeno estigma circular de colorido idêntico ao do corpo, situado de cada lado do segmento, um

pouco afastado da inserção do conexivo e a igual distância dos bordos anterior e posterior de cada segmento; os bordos segmentares teem pronunciada concavidade posterior na linha mediana e são mais ou menos retos ou de leve concavidade anterior nas linhas laterais. Na face dorsal existem sete segmentos aparentes e o desenho das rugosidades é




*Parabelminus carioca* n. g., n. sp., ♂ — Fig. 4: Cabeça e rostro, montada em bálsamo; fig. 5; escutelo; fig. 6; detalhe dos grânulos do tegumento (lâmina montada em bálsamo); fig 7; detalhe do tarso do terceiro par de patas e ápice da tíbia (lâmina montada em bálsamo); fig. 8; esquema da face dorsal do abdome (lâmina montada em bálsamo); fig. 9: ovo cório; fig. 10: ovo, cório, maior aumento.

mais saliente (fig. 8). O comprimento total do abdome no macho é de 5,580 mm e a largura máxima de 4,092 mm.

Conexivo largo na face dorsal, com 0,744 mm, de colorido preto, granuloso e com cerdas em cada granulação; no ângulo póstero- externo de cada segmento, do segundo ao quinto, é possivel notar pequena mancha pardo-avermelhada que se repete tambem, algumas vezes,

de modo mais tenue, no extremo do último segmento abdominal aparente quer no macho, quer na fêmea. O conexivo dorsal é mais largo ao nivel dos segmentos centrais do abdome, dando ao inseto um aspecto globoso. O conexivo ventral é bem mais estreito, de largura uniforme, cerca de 1/6 da maior largura do dorsal (0,124 mm no macho), e possue as manchas referidas, na mesma posição.

A extremidade posterior da fêmea é cortada em linha reta, lembrando a das espécies do gênero *Rhodnius*; a genitália do macho é globosa e os parâmeros são grandes, granulosos e possuem cerdas e pelos.

Os ovos são brancos, operculados num dos polos, postos isoladamente, medem 1,2 mm de comprimento por 0,72 mm de maior largura, ao nivel do opérculo a largura sendo de 0,44 mm; o cório do ovo não possue poros aparentes e tem o desenho que as figs, 9 e 10 revelam.

Holótipo ♂, Santa Tereza, Rio de Janeiro, D. F., Brasil, JANSEN & GUIMARÃES coll., 2/1943, em ninho de *Didelphis aurita* Wied, localizado em palmeira *Attalea indaya* Drude. Alótipo ♀ e parátipos 2 ♂ ♂ da mesma procedência, um dos quais tratado pela potassa e montado em bálsamo foi medido.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRUNER, S. C. & FRACKER, S. B.,

1926. Notes on Cuban Reduviidae. *Ann. Ent. Soc. Amer.*, 19 (2) : 247-251, fig. 1.

CHAMPION, G. C.,

1898. *Biologia Centrali-Americana. Insecta. Rhynchota. Hemiptera-Heteroptera*, 2 : XVI + 416 pp., 22 ests. (*cf.* p. 180).

DEL PONTE, E.,

1921. Contribución al estudio del gen. *Triatoma* Lap. *Rev. Inst. Bact. B. Aires*, 3(1) : 133-196, láms. 8-15.

DEL PONTE, E.,

1925. Nota adicional sobre el género *Triatoma* Laporte, con la descripción de três especies nuevas. *Rev. Inst. Bact. Dep. Nac. Hig., B. Aires*, 4 (1) : 23-34, figs. 1-2, lám. 1.

DEL PONTE, E.,

1930. Catálogo descriptivo de los géneros *Triatoma* Lap., *Rhodnius* Stal y *Eratyrus* Stal. *Rev. Inst. Bact. Dep. Nac. Hig. B. Aires*, 5 (8) : 855-937, figs. 1-25, láms. 41-53.

DISTANT, W. L.,

1902. Rhynchotal Notes. — XIV. Heteroptera : Families *Hydrometridae*, *Henicocephalidae*, and *Reduviidae* (part.). *Ann. Mag. Nat. Hist.*, 7, 10 (57) : 173-194.

HASE, A.,

1932. Beobachtungen an venezolanischen *Triatoma*-Arten, sowie zur allgemeinen Kenntnis der Familie der *Triatomidae* (Hemipt-Heteropt.). *Z. Parasitenk.*, 4 (4) : 585-652, figs. 1-27, 1 map.

HUSSEY, R. F.,

1922. A bibliographical notice on the reduviid genus *Triatoma* (Hemip.), *Psyche*, 29 (3) : 109-123.

LARROUSSE, F.,

1927. Etude biologique et systématique du genre *Rhodnius* Stal (Hémiptères, Reduvidae). *Ann. Parasit.*, 5 (1) : 63-88, figs. 1-9.

LENT, H. & PIFANO, F.,

1939. *Eutriatoma nigromaculata* (Stal, 1872) n. comb., espécie venezuelana encontrada infestada pelo *Schizotrypanum cruzi* (Chagas, 1909). Nota prévia. *Brasil-Med.*, 53 (27) : 685-686, 1 fig.

LETHIERRY, L. & SEVERIN, G.

1896. *Catalogue général des Hémiptères*, 3 : 275 pp., Berlin.

LIMA, A. M. C.,

1940. *Insetos do Brasil. Hemipteros*, 2 : 351 pp., 446 figs., Rio de Janeiro.

NEIVA, A.,

1913. Notas hemipterológicas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 5 (1) : 74-77 (port. e alem.).

NEIVA, A.,

1914. *Revisão do gênero Triatoma* Lap., These, 80 pp., Rio de Janeiro.

NEIVA, A. & LENT. H.,

1936. Notas e comentários sobre triatomídeos. Lista de espécies e sua distribuição geográfica. *Rev. Ent., Rio de Janeiro*, 6 (2) : 153-190.

NEIVA, A. & LENT. H.,

1941. Sinopse dos Triatomideos, *Rev. Ent., Rio de Janeiro*, 12 (1/2):61-92, figs. 1-28.

PICADO, C.,

1913. Les Broméliacées épiphytes considérées comme milieu biologique. *Bull. Sci. France et Belgique*, 7, 47 (3) : 215-360, figs. 1-54, pls. 6-24.

PINTO. C.,

1925. *Ensaio monographico dos reduvideos hematophagos ou "barbeiros"* These Fac. Med. Rio de Janeiro, 118 pp., figs. 1-58.

PINTO. C.,

1927. Classificação dos gêneros de Hemipteros da família Triatomidae (Reduvidioidea). *Rev. Med., S. Paulo*, 12 (48) : 271-281, figs. 1-13.

PINTO. C.,

1927. Classification de genres d'Hemiptères de la famille *Triatomidae* (Reduvidioidea). *Bol. Biol.*, 8 : 103-114, figs. 1-13.

PINTO. C.,

1930. *Arthropodes parasitos e transmissores de doenças,* 1 : 395 pp., Rio de Janeiro.

PINTO. C.,

1931. Valor do rostro e antenas na caracterização dos gêneros de Triatomideos (Hemiptera, Reduvidioidea), *Bol. Biol.,* 19 : 45-136, 70 figs., 1 quadro.

PINTO. C.,

1938. *Zoo-Parasitos de interesse médico e veterinário,* 376 pp., ests., figs.; quadros, Rio de Janeiro.

STAL, C.,

1859. Monographie der Gattung *Conorhinus* und Verwandten, *Berl. Ent. Z.,* 3 : 99-117, tab. 6, figs. I-IV.

STAL, C.,

1868. *Hemiptera Fabriciana.* Pars 1. *Svensk. Vet.-Ak. Handl.,* 8 (2) : 1-148, Stockholm (*cf.* pp. 123-124).

STAL, C.,

1872. *Enumeratio Hemipterorum.* Pars 2. *Svensk. Vet.-Ak. Handl.,* 10 (4) : 1-159, Stockholm (*cf.* pp. 108-112).

USINGER, R. L.,

1939. Descriptions of new Triatominae with a key to genera (Hemiptera, Reduviidae). *Univ. Calif. Publ. Ent.,* 7 (3) : 33-56, pl. 1.

USINGER, R. L.,

1941. Notes and descriptions of neotropical Triatominae (Hemiptera, Reduviidae). *Pan-Pacific Ent.,* 17 (2) : 49-57.

VALDÉS RAGUÉS, P.,

1910. Classificación Gundlach de Hemípteros Cubanos, conforme a los ejemplares que existen en el Museo del Instituto de 2.ª enseñanza de La Habana. *Anal. Acad. Cienc. Méd., Fis. y nat., Habana,* 46 : 425-446.

VALDÉS RAGUÉS, P.,

1914. *Zoología, Catálogo General. Museo Cubano "Gundlach",* 152 pp., Habana.

WALKER, F.,

1873. *Catalogue of the specimens of Hemiptera Heteroptera in the collection of the British Museum,* 7 : 213 pp., London.

WALKER, F.,

1873. *Catalogue of the specimens of Hemiptera Heteroptera in the collection of the British Museum,* 8 : 220 pp., London.

# Ecologia do Anopheles gambiae

## Pesquisas preliminares sôbre a viabilidade dos ovos que ficam fora da água (*)

por

G. M. de Oliveira Castro

"The question of the resistance of anopheline ova to various deleterious influences should be reinvestigated in the light of the information secured by Buxton concerning the resistance of Aedine ova. Boyd, M. F. — An Introduction to Malariology, 1930. —

## INTRODUÇÃO

Deram motivo a pesquisas os seguintes fatos:

1.º) a reinfestação rápida e intensa, pouco depois das primeiras chuvas do ano, do vale do Banabuiú, antes seco e aparentemente libertado do *Anopheles gambiae ;*

2.º) o aparecimento de larvas jovens, em criações de laboratório desenvolvendo-se nos estádios mais avançados, coincidindo com os dias em que se completava o volume de água das mesmas :

Mantínhamos, no laboratório, criações de *Anopheles gambiae* para determinar o tempo mínimo de evolução dêsse mosquito. Provinham de ovos que eram distribuidos logo depois das desovas, em pequenas tijelas de ferro esmaltado, com água, evitando-se, quanto possível, qualquer oscilação, para que os situados na orla do menisco não aderissem às paredes do recipiente, ficando fora da água. As criações, separadas segundo a data e origem das desovas, com alimentação e outras condições fixadas, desenvolviam-se regularmente até que, com surpreza nossa, vimos, numa cultura com oito dias de evolução, numerosas larvas recem-nascidas junto às larvas no quarto estádio e a algumas pupas. No dia seguinte, pouco depois de termos completado o

(*) Os estudos e observações em que êste artigo é baseado foram realizados sob os auspícios do Serviço de Malária do Nordeste — entidade cooperativa do Ministério da Educação e Saude —, da Divisão Sanitária Internacional da Fundação Rockefeller e do Instituto Oswaldo Cruz.

* Recebido para publicação a 2 de março e dado à publicidade em junho de 1943.

volume de água de algumas criações (medida recentemente tomada no laboratório), apareceram, nestas, larvas recém-nascidas. Pareceu-nos que as larvas provinham dos ovos que, a-pesar-dos cuidados ou em conseqüência do abaixamento de nível pela evaporação, tinham ficado presos às paredes das vasilhas e que, depois do abastecimento, retomavam contacto com a água. Retirámos alguns com um pincel, colocando-os em seguida, em novo recipiente com água: nasceram, momentos depois, larvinhas. Repetimos a experiência, depositando os ovos numa gota de água sôbre uma lâmina, verificando no binocular que não houvesse eventual transporte de larvas pelo pincel, com o mesmo resultado.

A-pesar-da sala de criações não ser telada (o laboratório estava se instalando), parecia evidente não se tratar de uma contaminação e que os ovos presos à parede dos recipientes, fora da superfície líquida, eram capazes de dar larvas mesmo oito dias depois da desova, quando postos de novo, em contacto com a água.

## EXPERIÊNCIAS

*Material empregado.* — Constituiram o objeto das experiências ovos de *Anopheles gambiae,* obtidos no laboratório. As desovas realizavam-se, de regra à noite, sobre papel de filtro molhado, mantido em cima de um coxim de algodão embebido dágua, numa placa de Petri. Cada amostra compõe-se de desovas realizadas na mesma data, de vários mosquitos capturados no mesmo dia e localidade, postos numa gaiola. Visando a espécie e não variações, não era mister reduzí-las a desovas individuais com o inconveniente de subdividir dados e exigir uma estorvante quantidade de recipientes de criação. Os mosquitos foram capturados em época em que se estabelecia o tempo seco (Vide graf. 1), despindo a vegetação das folhas e secando todos os rios, exceto o Jaguaribe. A ocasião era, portanto, propícia à segregação de formas de resistência, o que parece se ter confirmado pelo índice de esterilidade elevado de algumas desovas.

As localidades de proveniência dos mosquitos achavam-se em diversos graus atingidas pela seca.

### I — *Ovos expostos ao ar ambiente fora da água*

De cada amostra fizemos uma testemunha e experiências em que os ovos permaneceram fora da água, expostos ao ar ambiente, sete dias ou um mês.

Cada testemunha consistiu de uma fração de amostra contando 100 ovos que eram postos na água, na manhã seguinte à desova. De tôdas, nasceram

numerosas larvas 36 horas depois, positivando assim a viabilidades das amostras.

O dessecamento processou-se lentamente, dentro de 36 horas, no próprio papel de filtro onde se fez a desova.

Passados sete dias ou um mês os ovos eram postos na água.

*Não nasceu larva alguma dos* 1655 *ovos submetidos a sete dias de estágio fora da água, nem dos* 12.276 *ovos com um mês de prova* (Vide tab. 1). Os ovos murchavam ràpidamente, acabando por ficar deprimidos e contorcidos, fato esse que por si já sugeria a inviabilidade dos mesmos.

Êsses resultados estão de acôrdo com os de S. GEBERT, segundo os quais, passados quatro dias, cessavam de nascer larvas dos ovos do *Anopheles gambiae* (= *A. costalis*) sujeitos ao dessecamento natural fora da água.

II — *Ovos mantidos fora da água, em ar saturado de umidade*

Completando a observação dos ovos presos às paredes das vasilhas, constatamos que, com o abaixamento do nível, os que iam ficando mais afastados da água, num ambiente com menor teor de umidade, murchavam como os das experiências acima relatadas.

Daí fazermos nova série de experiências, mantendo os ovos em ambiente saturado de umidade.

Além disso, decorrendo da estrutura geológica da região, apresentavam-se condições naturais de umidade e temperatura que nos levaram a fazer uma terceira série de experiências.

Com efeito, no baixo Jaguaribe, mesmo em época de estio, quando a superfície de solo exposta aos raios diretos do sol fica escaldante, a maior ou menor profundidade, pela presença de lençol de água subterrâneo, encontra-se terra úmida. Assim, o fundo de muitas cacimbas abandonadas por não terem mais água e, provavelmente, o das inúmeras fendas existentes no vale e leito dos rios secos, além de úmidos, podem manter-se em temperatura mais baixa que a ambiente. As cacimbas e poças de água resultantes de inundações, constituiam importantes focos de *Anopheles gambiae.*

Por se tornarem necessárias contagens sistemáticas, impraticáveis nas condições dos métodos usuais de criação, a técnica que adotamos foi a seguinte :

Realizada a desova, distribüiam-se logo os ovos por meio de um pincel, em lotes de 50 ou 100, sobre retângulos de papel de filtro que eram postos em pequeno tubos de vidro tendo no fundo um algodão prèviamente molhado e bem espremido, tampando-se com rolha parafinada. Aqueles destinados a

permanecer em temperatura baixa guardavam-se numa geladeira regulada em tôrno de 14° C.

A-pesar-de estarem fora da água, no fim de alguns dias, nasciam larvas de parte dos ovos, o que era inevitável, a não ser que se reduzisse o teor de umidade dentro dos tubos a ponto de reproduzir as condições da experiência anterior, provocando o emurchecimento dos ovos.

Completado o tempo de permanência fora da água, os ovos correspondentes a essas larvas eram contados e rejeitados. Em seguida, os retângulos de papel-de-filtro com os restantes ovos inteiros eram colocados numa placa de Petri, no centro deprimido de um coxim de algodão fartamente embebido de água, tendo-se o cuidado de evitar um excesso de líquido capaz de dispersar os ovos tornando a contagem impraticável, e de cobrí-las com a tampa para evitar a evaporação.

Os ovos viáveis, assim que entravam em contacto com a água, davam larvas. Passados alguns dias, fazia-se no binocular a contagem das larvas nascidas pelos ovos vazios, utilizando-se de um pincel, a cuja pressão se deprimiam fàcilmente, mostrando a fenda de saída da larva; os inteiros eram em seguida dissecados com agulhas finas para verificar se continham larvas vivas ou mortas, ou se eram estéreis.

Como em ovos de quatro amostras destinadas à série testemunha, dissecadas seis a sete dias depois da desova, encontrassemos larvas vivas, estabelecemos o prazo mínimo de 15 dias a partir da desova, antes de fazer as dissecções para que não interferíssemos na evolução normal das experiências. Essas amostras foram desprezadas assim como algumas outras dissecadas antes que se completasse esse período.

O resultado bruto das contagens figura em tabelas que apresentamos mais adiante. A expressão numérica geral dos resultados de cada série de experiências, que damos a seguir em percentagens, calculou-se do total dos valores da mesma classe, relativos a cada amostra. Essas percentagens representam de fato a média ponderada das percentagens correspondentes a cada amostra, tomando-se por pêso o número de ovos, o que se deve tomar em conta no cálculo do desvio padrão, etc.

*A. Testemunha* (Vide tab. 2). — Serviram de testemunha 537 ovos provenientes de 11 amostras. Os ovos permanenceram na água, na temperatura do laboratório, desde o momento da desova.

Resultado :

| | |
|---|---|
| Nasceram as larvas de ..... | 54,0% |
| Morreram as larvas em ..... | 34,5% |
| Eram estéreis ..... | 11,5% |

Êste resultado vai servir de têrmo de comparação para as outras provas, sendo digno de notar-se a percentagem de larvas mortas dentro dos ovos.

B. *Estágio fora dágua, em temperatura ambiente.*

Fizémos cinco séries de experiências, correspondentes a 8, 10, 15, 20 e 30 dias de estágio fora dágua.

Resultado da série de 8 dias (Vide tabela 3).

Serviram 1.149 ovos, provenientes de 16 amostras.

| | |
|---|---|
| Nasceram as larvas de ..... | 10,0% |
| Nasceram e morreram dentro dos tubos as larvas de ... | 70,0% |
| Morreram dentro dos ovos as larvas de ..... | 14,4% |
| Eram estéreis. . . . . | 5,6% |

Resultado da série de 10 dias (Vide Tabela 4).

Serviram 1.250 ovos, provenientes de cinco amostras.

| | |
|---|---|
| Nasceram as larvas de ..... | 12,4% |
| Nasceram e morreram dentro dos tubos as larvas de ... | 63,6% |
| Morreram dentro dos ovos as larvas de ..... | 21,0% |
| Eram estéreis. . . . . | 3,0% |

Resultado da série de 15 dias (Vide Tabela 5).

Serviram 1.564 ovos, provenientes de 14 amostras.

| | |
|---|---|
| Nasceram as larvas de ..... | 0% |
| Nasceram e morreram dentro dos tubos as larvas de .. | 69,5% |
| Morreram dentro dos ovos as larvas de ..... | 28,5% |
| Eram estéreis. . . . . | 2,0% |

Os resultados das séries com 20 e 30 dias foram prejudicados pelo desenvolvimento de cogumelos, nos cartõezinhos de papel-de-filtro, à custa dos ovos mortos. Valem como resultados negativos porque só foram postos na água ovos cuidadosamente escolhidos de partes isentas de contaminação; as percentagens, porem, não puderam ser tiradas.

Resultado da série de 20 dias :

Serviram 2.744 ovos, correspondentes a 21 amostras, dentre os quais foram selecionados 410 que, postos na água, não deram larva alguma; desses, 55 eram estéreis.

Resultado da série com 30 dias:

Serviram 1.888 ovos, correspondentes a nove amostras. Foram escolhidos e postos na água 186 sem que nascesse larva alguma; dêsses, 100 eram estéreis.

C. *Estágio fora dágua, em temperatura de cerca de* 14° C.

Fizemos três séries de experiências, correspondentes a 15, 20 e 30 dias de permanência fora dágua.

Resultado da série com 15 dias (Vide Tabela 6).

Serviram 1.325 ovos, provenientes de 16 amostras.

| | |
|---|---|
| Nasceram as larvas | 5,0% |
| Nasceram e morreram dentro dos tubos as larvas de | 42,8% |
| Morreram dentro dos ovos as larvas de | 48,0% |
| Eram estéreis | 4,2% |

Resultado da série com 20 dias (Vide Tabela 7).

Serviram 924 ovos, provenientes de 15 amostras.

| | |
|---|---|
| Nasceram as larvas de | 0,1% |
| Nasceram e morreram dentro dos tubos as larvas de | 32,1% |
| Morreram dentro dos ovos as larvas de | 44,6% |
| Eram estéreis | 23,2% |

Resultado da série com 30 dias (Vide Tabela 8).

Serviram 943 ovos, provenientes de 16 amostras.

| | |
|---|---|
| Nasceram as larvas de | 0% |
| Nasceram e morreram dentro dos tubos as larvas de | 38,4% |
| Morreram dentro dos ovos as larvas de | 52,6% |
| Eram estéreis | 9,0% |

## ANÁLISE DOS RESULTADOS

Na prova testemunha — que deverá servir de base para a interpretação dos resultados das experiências — tivemos ovos cujas larvas nasceram, ovos com larvas mortas e ovos estéreis.

Não tem senso investigar o comportamento de ovos estéreis em face de modificações do meio exterior. Também os ovos cujas larvas morrem

por causa alheia à experimentação, tal como se deu na testemunha e que devemos prever entre os sujeitos à experimentação, não deveriam tomar parte nas pesquisas.

Dissecados, reconhecem-se os ovos estéreis; não se distinguem, porém, entre si, os ovos com larvas mortas pela experimentação ou por motivo estranho a esta.

Os ovos estéreis podem ser eliminados. Considerando, em cada série de experiências, apenas os demais (Vide tab. 9) e representando por letras as diversas classes que constituem, teremos :

$^{n}t$ = percentagem de larvas nascidas na prova testemunha

$^{m}t$ = percentagem de ovos com larvas mortas na prova testemunha

$^{n}$ = percentagem de larvas nascidas de ovos que resistiram à experiência

$^{m'}$ = percentagem de *ovos com larvas mortas porque não resistiram à experiência*

$^{m''}$ = percentagem de *ovos cujas larvas morreram depois de nascidas, dentro dos tubos, porque não resistiram à experiência*

$^{m}t'$ = percentagem de ovos que foram sujeitos à experiência, com larvas mortas, mas por causa idêntica às que mataram as larvas nos ovos da testemunha

$$^{n}t + {}^{m}t = {}^{n} + {}^{m'} + {}^{m''} + {}^{m}t'$$

$$^{n}t - {}^{n} = {}^{m'} + {}^{m''} + {}^{m}t' - {}^{m}t \qquad (1)$$

Se a causa da morte de larvas, que agiu na prova testemunha, persistisse inalterada na experimentação, e não surgindo circunstância compensadora como veremos, teríamos num grande número de observações :

$$^{m}t' = {}^{m}t$$

$$^{n}t - {}^{n} = {}^{m'} + {}^{m''} \qquad (2)$$

Como se vê, o único valor desconhecido, *m'*, necessário para se ter percentagem do total de ovos que não resistiram à experimentação, ficaria, assim, determinado pelos demais e, com isto, seria possível exprimir quantitativamente o resultado das experiências.

*Ovos com larvas mortas.* — Resultou, no entanto, das experiências feitas em temperatura ambiente, que as percentagens de ovos com larvas mortas foram nessas experiências sempre menores que na testemunha.

Na impossibilidade de distinguir os ovos com larvas mortas segundo a causa da morte, compreendemos com essa designação os valores $^{m}t$ na testemunha, e $^{m'} + {}^{m}t'$ nas diversas séries de experiências.

Temos, portanto (Vide tab. 9):

$$^{m'} + {}^{m}t' < {}^{m}t$$

Donde se deduz :

$$^{m}t' < {}^{m}t - {}^{m'}$$

Não podendo a percentagem de ovos com larvas mortas pela experiência ser menor que zero, teremos :

$$^{m}t' < {}^{m}t$$

Havendo êssa desigualdade, e como $^{m}t'$ é desconhecido, torna-se impossivel exprimir quantitativamente, com precisão, os resultados das experiências.

Algumas observações feitas no laboratório veem, agora, a propósito :

Com o fim de experimentar a influência da insolação, nas larvas do *Anopheles gambiae,* tomávamos larvas no quarto estádio, da mesma desova e criação, distribuindo-as em dois lotes, dos quais um expúnhamos ao sol, continuando o outro no laboratório. As expostas ao sol pupavam, quasi tôdas, às vêzes em minutos, de regra em poucas horas; as conservadas no laboratório mantinham-se no quarto estádio, um ou mais dias. Quando passamos a insolar as criações, reduziu-se a mortalidade das larvas no momento das mudas e o tempo mínimo de evolução, que se processava regularmente, de ovo a adulto, em oito ou nove dias, para seis ou sete. A insolação, portanto, se bem que não seja fator indispensável ao desenvolvimento do *Anopheles gambiae,* pois obtivemos milhares de alados, de criações que permaneceram no laboratório desde a desova, age como estímulo às ecdises, não só provocando como facilitando a muda, diminuindo a mortalidade das larvas neste processo.

Ora, o processo da saída da larva do ovo é, em muitas particularidades, semelhante ao da muda, e como as pesquisas foram feitas no laboratório, ao abrigo do sol, disso teria resultado a morte de larvas dentro dos ovos explicando-se assim a mortalidade revelada pela prova testemunha ($^{m}t$, $^{m}t'$).

Por outro lado, patenteou-se a influência de uma excitação provocando a saída de larvas dos ovos, em contagens feitas seis e sete dias depois da

desova, quando, de quatro amostras destinadas à série testemunha, pouco depois de serem manejados os ovos pelo pincel, nasceram larvas de alguns deles. Alem disso, comparando o que se passou na testemunha, cujas larvas começavam a nascer, regularmente 36 horas depois da desova, com o que se deu dentro dos tubos com os ovos fora da água, cujas larvas que aí nascem só o fazem mais tarde, mas em verdadeiro êxodo, caminhando ativamente no papel de filtro, como se emigrassem em busca da água, tem-se a impressão de que, num dado momento, se estabeleceu uma condição que provocou a saída das larvas dos ovos. Faltando à testemunha êste estímulo compreende-se porque $^{m}t' < {}^{m}t$.

Nas experiências feitas em temperatura de 14°C, a percentagem de larvas nascidas dentro dos tubos foi sempre menor que nas feitas em temperatura ambiente, como se a temperatura baixa atenuasse a excitação provocada pelo prolongado estágio fora da água, morrendo em consequência maior número de larvas dentro dos ovos. Note-se ainda que a temperatura baixa não foi nociva favorecendo a resistência a esse estágio.

Em resumo: a saída das larvas de dentro dos ovos parece depender de um estímulo natural, a insolação; mas reagem, como as larvas em estado de "akinesis", tambem a outras excitações. A presença de estímulos inerentes à própria experimentação trouxe como conseqüência desigualdade de condições entre esta e a testemunha.

Não conhecemos a diferença, $^{m}t' - {}^{m}t$; se a desprezarmos, introduziremos um êrro no cálculo da mortalidade causada pela experimentação (Vide igualdade 1); mas, como a análise estatística dos resultados revelou variação dentro de limites muito estreitos, êsse êrro, no mesmo sentido para cada tipo de experiências, será pràticamente constante, não nos impedindo, portanto, a análise de marcha dos resultados conforme os períodos diversos de permanência fora da água.

Tanto em temperatura ambiente como em temperatura mais baixa, as percentagens de ovos que resistiram fora da água caíram bruscamente, passado certo período de poucos dias. Comportaram-se, pois, os ovos do *Anopheles gambiae* como aqueles cujos embriões esgotam rapidamente as reservas alimentares, comportamento êsse bem diverso dos que estivam ou hibernam.

Verificamos, repetidas vezes, que as larvas recém-nascidas do *Anopheles gambiae* mal resistem 24 horas sem alimento, como se nascessem com as reservas esgotadas; mas, depois de alimentadas resistem a um prolongado jejum. Além disso, a sobrevivência maior dos ovos em temperatura baixa pode explicar-se pela evolução mais lenta, resultante de metabolismo e consumo de reservas diminuidas.

*Experiências complementares* — A resistência dos ovos não foi maior substituindo-se o papel de filtro por outros substratos; em ambiente saturado de umidade experimentámos a lama úmida, o papel parafinado, e ovos presos às paredes das vasilhas, em condições idênticas às da observação inicial.

Ovos expostos ao ar sôbre lama úmida, imitando condições naturais, à medida que a lama seca também secam murchando-se, morrendo tôdas as larvas.

Como tivéssemos observado na lama, várias vezes, larvas, não só de *Anopheles gambiae* como de outros anofelinos, formando focos naturais, onde ficam quietas, deixando de fora apenas os espiráculos, mantivémos no laboratório, em condições semelhantes, lotes de larvas dos vários estádios. Em relação às testemunhas correspondentes, diferiram apenas porque evolviam com mortalidade muito elevada e em tempo mais longo, explicável pela exiguidade de alimento no espaço reduzidíssimo a que ficam confinadas por não poderem movimentar-se livremente.

Ovos guardados na geladeira, a uma temperatura próxima de 0°C, se expostos ao ar secam e murcham, se conservados em ambiente saturado de umidade, ao cabo de 40 dias (prazo mínimo experimentado) apresentam-se com tôdas as larvas mortas.

Em temperatura próxima de 0°C, as larvas se imobilizam e readiquirem em poucos instantes o movimento, assim que a temperatura se eleva. Experimentando nestas condições culturas contendo 631 larvas nos diversos estádios, em 20 dias todas as larvas tinham morrido. (*).

*Agradecimento* — Na ocasião em que fizemos êstes trabalhos era Diretor dos Laboratórios do Serviço de Malária do Nordeste, o Dr. Manoel Ferreira que nos proporcionou tôdas as facilidades e o conforto de que necessitámos; tivemos como assistente o Dr. A. Conserva Feitosa, de quem dependeu em grande parte o bom andamento das diversas secções do laboratório e da execução destas e de outras experiências.

A tôdos agradecemos, assim como às dedicadas auxiliares do laboratório.

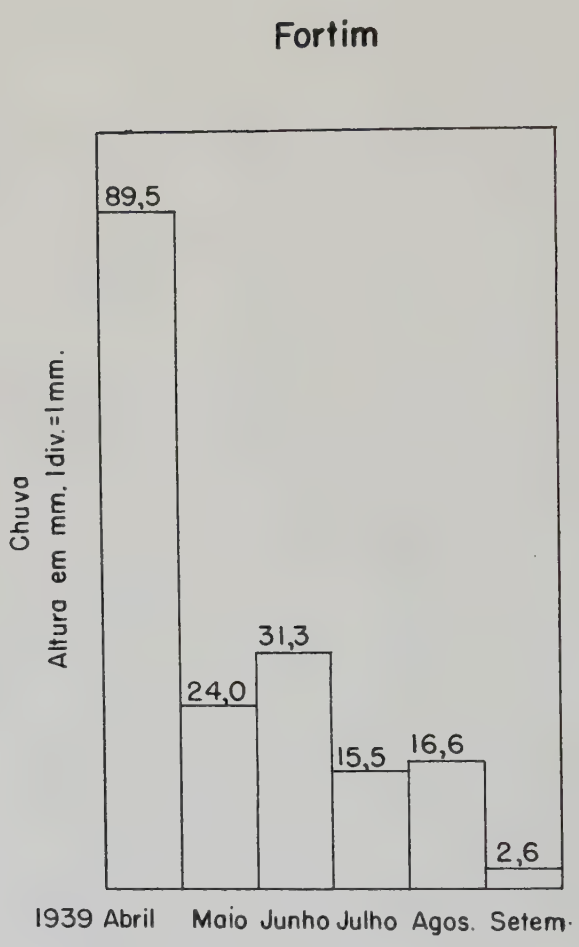
(*) Observamos imobilidade semelhante, em temperatura mais elevada que a ambiente, porem, as larvas ou pupas levaram mais tempo para readquirir movimento quando voltaram à temperatura normal. Depois de uma exposição ao sol, que durou algumas horas, 63 larvas e sete pupas, colhidas de focos naturais, com o excessivo aquecimento da água, ficaram tôdas imóveis, como se estivessem mortas. Horas depois, algumas voltaram à mobilidade, tendo 10 evolvido até a fase adulta. Como não despuséssemos de estufas, nada experimentámos baseados nesta observação.

*Resumo e conclusões* — Dentro das possibilidades de um laboratório de emergência, instalado em Aracati, Estado do Ceará, estudou-se a resistência dos ovos de *Anopheles gambiae* ao estágio fora da água, em diversas condições de umidade e temperatura; a resistência dos ovos foi muito pequena.

Tampouco se conseguiu fórmas de resistência entre larvas dos diversos estádios e pupas, conservadas em temperatura baixa.

Não houve oportunidade de se experimentar a ação do gás carbônico, nem de se analisar geneticamente as amostras de *Anopheles gambiae*, fatores, portanto, de que pode depender, segundo alguns A. A., o aparecimento das fases estivante ou hibernante.

## GRÁFICO N.º 1




Fortim é um pequeno povoado, no lado esquerdo da fóz do Jaguaribe, provido de serviço meteorológico em cujos dados nos baseamos para a confecção deste gráfico.

TABELA I

| LOCALIDADE DA CAPTURA | DATA DE CAPTURA | DATA DA DESOVA | TESTEMUNHAS (100 OVOS) | SETE DIAS | | | UM MÊS | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | DATA | N. DE OVOS | LARVAS NASCIDAS | DATA | N. DE OVOS | LARVAS NASCIDAS |
| | 1939 | 1939 | | 1939 | | | 1939 | | |
| Coqueiros | 7/V | 9/V | + | 16/V | 100 | 0 | 6/VI | 400 | 0 |
| Coqueiros, 2.ª desova | 7/V | 10/V | + | 17/V | 15 | 0 | 6/VI | 14 | 0 |
| Taboleiro | 7/V | 9/V | + | 16/V | 100 | 0 | 6/VI | 360 | 0 |
| São Gonçalo | 8/V | 9/V | + | 16/V | 100 | 0 | 7/VI | 500 | 0 |
| São Gonçalo, 2.ª desova | 8/V | 10/V | + | 17/V | 100 | 0 | 7/VI | 102 | 0 |
| São Gonçalo | 8/V | 9/V | + | 16/V | 100 | 0 | 9/VI | 43 | 0 |
| São Gonçalo, 2.ª desova | 8/V | 10/V | + | 17/V | 100 | 0 | 10/VI | 602 | 0 |
| Caiçara | 8/V | 9/V | + | 16/V | 100 | 0 | 9/VI | 900 | 0 |
| Caiçara, 2.ª desova | 8/V | 10/V | + | 17/V | 40 | 0 | 10/VI | 2635 | 0 |
| Caiçara | 8/V | 9/V | + | 16/V | 100 | 0 | 9/VI | 600 | 0 |
| Caiçara, 2.ª desova | 8/V | 10/V | + | 17/V | 100 | 0 | — | — | 0 |
| | 10/V | 11/V | + | 18/V | 100 | 0 | 11/VI | 700 | 0 |
| Várzea de Santarém | 11/V | 12/V | + | 19/V | 100 | 0 | 12/VI | 1320 | 0 |
| Sítio Albuquerque | 11/V | 12/V | + | 19/V | 100 | 0 | 12/VI | 650 | 0 |
| Sítio Albuquerque | 11/V | 12/V | + | 19/V | 100 | 0 | 12/VI | 600 | 0 |
| Várzea de Santarém | 11/V | 13/V | + | 20/V | 100 | 0 | 14/VI | 1200 | 0 |
| Várzea de Santana | 12/V | 14/V | + | 21/V | 100 | 0 | 14/VI | 1250 | 0 |
| Várzea de Santarém | 13/V | 14/V | + | 21/V | 100 | 0 | 14/VI | 400 | 0 |
| TOTAL | | | | | 1655 | | | 12276 | |

LISTA DA PROVENIÊNCIA DAS AMOSTRAS

| N DA AMOSTRA | PROVENIÊNCIA | DATA EM QUE OS MOSQUITOS FORAM POSTOS PARA DESOVAR | DATA DA DESOVA | N. DA AMOSTRA | PROVENIÊNCIA | DATA EM QUE OS MOSQUITOS FORAM POSTOS PARA DESOVAR | DATA DA DESOVA |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | *1939* | *1939* | | | *1939* | *1939* |
| 1 | Lagôa das Pombas | 27/VI | 28/VI | 24 | Córrego da Inveja | 13/VII | 14/VII |
| 2 | Lagôa das Pombas | 28/VI | 29/VI | 25 | Córrego da Inveja | 13/VII | 14/VII |
| 3 | Lagôa das Pombas | 28/VI | 29/VI | 26 | Córrego da Inveja | 15/VII | 17/VII |
| 4 | Lagôa das Pombas | 28/VI | 29/VI | 27 | Córrego da Inveja | 15/VII | 17/VII |
| 5 | 2.ª desova do N. 1 | — | 29/VI | 28 | Córrego da Inveja | 17/VII | 18/VII |
| 7 | 2.ª desova do N. 2, 3 ou 4 | — | 30/VI | 29 | Córrego da Inveja | 17/VII | 18/VII |
| 10 | Córrego da Inveja | 4/VII | 6/VII | 30 | Outeiro | 18/VII | 19/VII |
| 11 | Córrego da Inveja | 6/VII | 7/VII | 31 | Venancio | 18/VII | 19/VII |
| 12 | Estrada do Córrego da Inveja | 6/VII | 7/VII | 32 | Porto José Alves | 19/VII | 21/VII |
| | | | | 35 | Córrego da Inveja | 28/VII | 29/VII |
| 13 | Córrego daInveja | 6/VII | 7/VII | 36 | Córrego da Inveja | 28/VII | 29/VII |
| 14 | 2.ª desova do N. 10 | — | 7/VII | 37 | Córrego da Inveja | 28/VII | 29/VII |
| 15 | Estrada do Córrego da Inveja | 7/VII | 8/VII | 40 | Cachorro Magro | 29/VII | 1/VIII |
| | | | | 41 | Córrego da Inveja | 31/VII | 2/VIII |
| 16 | Córrego da Inveja | 7/VII | 8/VII | 42 | Timbaúba | 31/VII | 2/VIII |
| 17 | 2.ª desova do N. 15 ou 16 | — | 10/VII | 45 | Venâncio | 1/VIII | 3/VIII |
| 18 | Estrada do Córrego da Inveja | 10/VII | 11/VII | 47 | 3.ª desova do N. 42 | — | 4/VIII |
| | | | | 59 | Venâncio | 10/VIII | 11/VIII |
| 19 | Córrego da Inveja | 10/VII | 11/VII | 60 | Córrego do Rodrigues | 11/VIII | 12/VIII |
| 20 | Córrego da Inveja | 11/VII | 12/VII | 61 | Córrego do Rodrigues | 11/VIII | 12/VIII |
| 21 | Córrego da Inveja | 11/VII | 12/VII | 62 | 2.ª desova do N. 58 (Timbaúba) | 8/VIII | 12/VIII |
| 22 | Córrego da Inveja | 12/VII | 13/VII | | | | |
| 23 | Córrego da Inveja | 12/VII | 13/VII | | | | |

TABELA II

**Testemunha**

| N. DA AMOSTRA | DATA DA CULTURA | N. TOTAL DE OVOS | N. DE LARVAS NASCIDAS | N. DE LARVAS MORTAS | N. DE OVOS ESTÉREIS |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 28/VI | 50 | 32 | 16 | 2 |
| 2 | 29/VI | 50 | 34 | 15 | 1 |
| 7 | 30/VI | 50 | 15 | 19 | 16 |
| 11 | 7/VII | 50 | 25 | 24 | 1 |
| 14 | 7/VII | 50 | 28 | 17 | 5 |
| 15 | 8/VII | 50 | 39 | 11 | 0 |
| 16 | 8/VII | 49 | 11 | 4 | 34 |
| 17 | 10/VII | 53 | 43 | 10 | 0 |
| 19 | 11/VII | 40 | 18 | 22 | 0 |
| 26 | 17/VII | 45 | 16 | 27 | 2 |
| 27 | 17/VII | 50 | 29 | 20 | 1 |
| TOTAL | | 537 | 290 | 185 | 62 |

TABELA III

**8 dias. Temperatura ambiente**

| N. DA AMOSTRA | DATA DA CULTURA | N. TOTAL DE OVOS | N. DE LARVAS NASCIDAS, QUE RESISTIRAM Á PROVA | N. DE LARVAS QUE NASCERAM E MORRERAM DENTRO DOS TUBOS | N. DE LARVAS QUE MORRERAM DENTRO DOS OVOS | N. DE OVOS ESTÉREIS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 6/VII | 50 | 1 | 40 | 5 | 4 |
| 3 | 7/VII | 50 | 5 | 31 | 14 | 0 |
| 7 | 8/VII | 50 | 3 | 18 | 5 | 24 |
| 11 | 15/VII | 50 | 8 | 37 | 2 | 3 |
| 12 | 15/VII | 50 | 2 | 36 | 12 | 0 |
| 13 | 15/VII | 50 | 7 | 26 | 12 | 5 |
| 14 | 15/VII | 50 | 1 | 34 | 14 | 1 |
| 16 | 17/VII | 50 | 3 | 32 | 15 | 0 |
| 18 | 19/VII | 50 | 5 | 30 | 15 | 0 |
| 21 | 20/VII | 50 | 5 | 30 | 12 | 3 |
| 22 | 21/VII | 99 | 3 | 85 | 7 | 4 |
| 23 | 21/VII | 100 | 4 | 88 | 1 | 7 |
| 24 | 22/VII | 100 | 3 | 80 | 11 | 6 |
| 25 | 22/VII | 100 | 5 | 78 | 13 | 4 |
| 26 | 24/VII | 50 | 28 | 15 | 7 | 0 |
| 27 | 24/VII | 200 | 32 | 144 | 21 | 3 |
| TOTAL | | 1149 | 115 | 804 | 166 | 64 |

TABELA IV

**10 dias. Temperatura ambiente**

| N. DA AMOSTRA | DATA DA CULTURA | N. TOTAL DE OVOS | N. DE LARVAS NASCIDAS OUE RESISTIRAM Á PROVA | N. DE LARVAS QUE NASCERAM E MORRERAM DENTRO DOS TUBOS | N. DE LARVAS QUE QUE MORRERAM DENTRO DOS OVOS | N. DE OVOS ESTÉREIS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 23 | 23/VII | 100 | 0 | 77 | 15 | 8 |
| 26 | 26/VII | 100 | 30 | 48 | 17 | 5 |
| 27 | 26/VII | 400 | 36 | 245 | 111 | 8 |
| 45 | 13/VIII | 350 | 20 | 271 | 53 | 6 |
| 47 | 13/VIII | 200 | 57 | 90 | 46 | 7 |
| TOTAL | | 1150 | 143 | 731 | 242 | 34 |

TABELA V

**15 dias. Temperatura ambiente**

| N. DA AMOSTRA | DATA DA CULTURA | N. TOTAL DE OVOS | N. DE LARVAS NASCIDAS, QUE RESISTIRAM Á PROVA | N. DE LARVAS QUE NASCERAM E MORRERAM DENTRO DOS TUBOS | N. DE LARVAS QUE MORRERAM DENTRO DOS OVOS | N. DE OVOS ESTÉREIS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 10 | 21/VII | 50 | 0 | 30 | 20 | 0 |
| 11 | 22/VII | 200 | 0 | 190 | 10 | 0 |
| 12 | 22/VII | 250 | 0 | 213 | 32 | 5 |
| 14 | 22/VII | 50 | 0 | 35 | 12 | 3 |
| 15 | 23/VII | 100 | 0 | 67 | 33 | 0 |
| 16 | 23/VII | 100 | 0 | 79 | 17 | 4 |
| 17 | 25/VII | 250 | 0 | 137 | 108 | 5 |
| 24 | 29/VII | 44 | 0 | 0 | 40 | 4 |
| 25 | 29/VII | 150 | 0 | 133 | 14 | 3 |
| 26 | 31/VII | 100 | 0 | 50 | 45 | 5 |
| 59 | 26/VIII | 50 | 0 | 38 | 12 | 0 |
| 60 | 27/VIII | 70 | 0 | 16 | 54 | 0 |
| 61 | 27/VIII | 75 | 0 | 32 | 41 | 2 |
| 62 | 27/VIII | 75 | 0 | 67 | 8 | 0 |
| TOTAL | | 1564 | 0 | 1087 | 446 | 31 |

TABELA VI

**15 dias + 14° C.**

| N. DA AMOSTRA | DATA DA CULTURA | N. TOTAL DE OVOS | N. DE LARVAS NASCIDAS QUE RESISTIRAM Á PROVA | N. DE LARVAS QUE NASCERAM E MORRERAM DENTRO DOS TUBOS | N. DE LARVAS QUE QUE MORRERAM DENTRO DOS OVOS | N. DE OVOS ESTÉREIS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 15 | 23/VII | 50 | 0 | 3 | 47 | 0 |
| 16 | 23/VII | 50 | 11 | 16 | 17 | 6 |
| 17 | 25/VII | 100 | 3 | 89 | 8 | 0 |
| 18 | 26/VII | 50 | 3 | 18 | 28 | 1 |
| 19 | 26/VII | 50 | 1 | 4 | 44 | 1 |
| 20 | 27/VII | 50 | 3 | 6 | 32 | 9 |
| 21 | 27/VII | 100 | 3 | 86 | 8 | 3 |
| 24 | 29/VII | 50 | 0 | 6 | 41 | 3 |
| 25 | 29/VII | 50 | 2 | 3 | 44 | 1 |
| 27 | 31/VII | 50 | 3 | 37 | 7 | 3 |
| 35 | 13/VIII | 50 | 1 | 42 | 2 | 5 |
| 36 | 13/VIII | 70 | 0 | 55 | 12 | 3 |
| 37 | 13/VIII | 105 | 5 | 80 | 12 | 8 |
| 41 | 17/VIII | 50 | 0 | 7 | 42 | 1 |
| 42 | 17/VIII | 250 | 24 | 15 | 208 | 3 |
| 45 | 18/VIII | 200 | 7 | 100 | 84 | 9 |
| TOTAL | ..... | 1325 | 66 | 567 | 636 | 56 |

TABELA VII

**20 dias + 14° C.**

| N. DA AMOSTRA | DATA DA CULTURA | N. TOTAL DE OVOS | N. DE LARVAS NASCIDAS, QUE RESISTIRAM A PROVA | N. DE LARVAS QUE NASCERAM E MORRERAM DOS DOS TUBOS | N. DE LARVAS QUE MORRERAM DENTRO DENTRO DOS OVOS | N. DE OVOS ESTÉREIS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 15 | 28/VII | 50 | 0 | 9 | 41 | 0 |
| 16 | 28/VII | 50 | 1 | 40 | 9 | 0 |
| 18 | 28/VII | 50 | 0 | 35 | 15 | 0 |
| 20 | 1/VIII | 50 | 0 | 10 | 37 | 3 |
| 22 | 2/VIII | 100 | 0 | 51 | 49 | 0 |
| 23 | 2/VIII | 50 | 0 | 11 | 36 | 3 |
| 27 | 5/VIII | 50 | 0 | 35 | 5 | 10 |
| 28 | 7/VIII | 50 | 0 | 0 | 38 | 12 |
| 29 | 7/VIII | 50 | 0 | 1 | 0 | 49 |
| 30 | 8/VIII | 97 | 0 | 5 | 90 | 2 |
| 31 | 9/VIII | 100 | 0 | 46 | 52 | 2 |
| 32 | 10/VIII | 27 | 0 | 0 | 0 | 27 |
| 40 | 21/VIII | 100 | 0 | 6 | 0 | 94 |
| 47 | 24/VIII | 100 | 0 | 48 | 40 | 12 |
| TOTAL | ..... | 924 | 1 | 297 | 412 | 214 |

TABELA VIII

**30 dias + 14° C.**

| N. DA AMOSTRA | DATA DA CULTURA | N. TOTAL DE OVOS | N. DE LARVAS NASCIDAS QUE RESISTIRAM A PROVA | N. DE LARVAS QUE NASCERAM E MORRERAM DENTRO DOS TUBOS | N. DE LARVAS QUE QUE MORRERAM DENTRO DOS OVOS | N. DE OVOS ESTÉREIS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 29/VII | 40 | 0 | 7 | 30 | 3 |
| 3 | 29/VII | 30 | 0 | 8 | 20 | 2 |
| 4 | 29/VII | 35 | 0 | 18 | 17 | 0 |
| 5 | 29/VII | 28 | 0 | 5 | 21 | 2 |
| 15 | 7/VIII | 50 | 0 | 3 | 44 | 3 |
| 18 | 10/VIII | 40 | 0 | 21 | 19 | 0 |
| 19 | 10/VIII | 20 | 0 | 2 | 17 | 1 |
| 21 | 11/VIII | 100 | 0 | 10 | 89 | 1 |
| 22 | 12/VIII | 100 | 0 | 74 | 26 | 0 |
| 23 | 12/VIII | 50 | 0 | 18 | 27 | 5 |
| 24 | 13/VIII | 100 | 0 | 57 | 43 | 0 |
| 25 | 13/VIII | 100 | 0 | 27 | 69 | 4 |
| 26 | 15/VIII | 100 | 0 | 69 | 28 | 3 |
| 27 | 15/VIII | 50 | 0 | 35 | 5 | 10 |
| 28 | 17/VIII | 50 | 0 | 3 | 41 | 6 |
| 29 | 17/VIII | 50 | 0 | 5 | 0 | 45 |
| TOTAL | | 943 | 0 | 362 | 496 | 85 |

TABELA IX

| | EXPERIÊNCIA | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | TEMPERATURA AMBIENTE | | | | | TEMPERATURA DE ± 14°C | | |
| | TESTEMUNHA | ESTÁGIO FORA DA ÁGUA DURANTE: | | | | | | |
| | | 8 dias | 10 dias | 15 dias | 20 dias | 30 dias | 15 dias | 20 dias | 30 dias |
| N. de amostras | 11 | 16 | 6 | 14 | 21 | 9 | 16 | 43 | 16 |
| N. de ovos | 475 | 1.116 | 1.250 | 1.533 | ca. 2.744 | ca. 1.888 | 1.269 | 710 | 858 |
| Percentagem de larvas nascidas de ovos postos na água | 61.0% | 10.6% | 12.8% | 0% | 0% | 0% | 5.2% | 0.1% | 0% |
| Percentagem de larvas que nasceram, morrendo dentro dos tubos | 0 | 74.2% | 65.5% | 70.9% | — | — | 44.7% | 41.8% | 42.2% |
| Percentagem de ovos com larvas mortas | 39.0% | 15.3% | 21.7% | 29.1% | — | — | 50.1% | 58.0% | 57.8% |

## SUMMARY

Within the possibilities offered by an emergency laboratory in Aracati, Ceará State, we studied the resistance of the eggs of *Anopheles gambiae*, maintained out of water under different conditions of temperature and humidity. The resistance observed was insufficient to justify special mosquito-control measures.

The same results were obtained with larvae and pupae at low temperature.

The analysis of the data concerning the egg resistance showed that hatching depends on stimuli.


## BIBLIOGRAFIA


GEBERT, S.

1937. Notes on the viability of *Anopheles costalis* ova subjected to natural dessication. Trans. Royal Soc. Trop. Med. & Hyg., 31 (1) : 115-117.

A respeito da ação dos raios solares sobre desenvolvimento das larvas, veja-se:

PINTO, C.

1939. Disseminação da malaria pela aviação; biologia do *Anopheles gambiae* e outros anofelinos do Brasil. Mem. Inst. Osw. Cruz, 34 (3) : 323-324 (Ação dos raios solares sobre o desenvolvimento das larvas. Heliobiose.).

45
3 P6

IMPRENSA NACIONAL
RIO DE JANEIRO — 1943